Załącznik 2a

# AUTOREFERAT

# WPŁYW INHIBITORÓW ENZYMU KONWERTUJĄCEGO ANGIOTENSYNĘ NA HEMOSTAZĘ I UKŁAD SERCOWO-NACZYNIOWY

dr n. med. Marzena Wojewódzka-Żelezniakowicz

Zakład Medycyny Ratunkowej i Katastrof
Wydział Nauk o Zdrowiu
Uniwersytet Medyczny
w Białymstoku

Białystok 2017

**WPŁYW INHIBITORÓW ENZYMU KONWERTUJĄCEGO ANGIOTENSYNĘ NA HEMOSTAZĘ I UKŁAD SERCOWO-NACZYNIOWY**

**SPIS TREŚCI**


**I. DANE O AUTORZE**

1. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe
2. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

**II. OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE**

1. Wykaz publikacji stanowiących podstawę habilitacji
2. Charakterystyka badań i wyników stanowiących podstawę habilitacji
   - 2.1. Układ pracy
   - 2.2. Wstęp i cele badań
   - 2.3. Informacje o metodyce badań
   - 2.4. Opis wyników badań stanowiących osiągnięcie i dyskusja
   - 2.5. Podsumowanie i praktyczne zastosowanie uzyskanych wyników
   - 2.6. Piśmiennictwo

**III. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO**

1. Dane bibliometryczne

**IV. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH**

1. Podsumowanie pozostałego dorobku naukowego
2. Dane bibliometryczne
3. Tematyka pozostałych prac badawczych
   - 3.1. Zaburzenia hemostazy w chorobach układu sercowo-naczyniowego
   - 3.2. Nowoczesne techniki postępowania w przypadku niewydolności wielonarządowej w praktyce szpitalnego oddziału ratunkowego
   - 3.3. Problematyka diagnostyki i leczenia ostrych zatruć
   - 3.4. Innowacyjne techniki edukacji w medycynie ratunkowej
   - 3.5. Organizacyjne aspekty działania systemu Państwowe Ratownictwo Medyczne
   - 3.6. Badania nad rolą glikozydaz w diagnostyce i patologii chorób metabolicznych i nowotworowych

**V. KOPIA DOKUMENTU POTWIERDZAJĄCEGO POSIADANIE STOPNIA DOKTORA**

## I. DANE O AUTORZE

Imię i nazwisko: Marzena Wojewódzka-Żelezniakowicz

Data i miejsce urodzenia: 14.10.1975 r., Białystok

Wykształcenie

- 1991–1994 r. – I Liceum Ogólnokształcące im. Mikołaja Kopernika w Sokółce
- 1994–2000 r. – Wydział Lekarski Akademii Medycznej w Białymstoku

1. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe
   - 2004 r. – doktor nauk medycznych na podstawie rozprawy: „Porównanie przeciwzakrzepowego działania tkankowego i osoczowego inhibitora konwertazy angiotensyny w modelu zakrzepicy tętniczej u szczura." – promotor Prof. dr hab. Ewa Chabielska
   - Specjalizacje

     2007 r. – medycyna ratunkowa
   - Studia podyplomowe

     2011 r. – ukończone Podyplomowe Studium Prawa, Organizacji i Zarządzania w Ochronie Zdrowia z wynikiem bardzo dobrym
   - Towarzystwa naukowe

     Polskie Towarzystwo Medycyny Ratunkowej

     Polskie Towarzystwo Kardiologiczne

     Członek Zarządu Stowarzyszenia Ośrodków Terapii Hiperbarycznej
   - Znajomość języków obcych

     Język angielski – dobry

     Język włoski – dość dobry

     Język rosyjski – w stopniu komunikatywnym
2. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych
   - 2000–2001 r. – staż podyplomowy w Szpitalu Klinicznym Akademii Medycznej w Białymstoku
   - 2002 r. – zatrudnienie na stanowisku asystenta w Klinice Medycyny Ratunkowej Akademii Medycznej w Białymstoku
   - 2002–2006 r. – zatrudnienie w Państwowym Szpitalu Klinicznym w Białymstoku
   - od 2006 r. – zatrudnienie w Szpitalnym Oddziale Ratunkowym Państwowego

Szpitala Klinicznego w Białymstoku

- od 2008 r. – zatrudnienie na stanowisku adiunkta w Zakładzie Medycyny Ratunkowej i Katastrof Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
- od 2015 r. – zatrudnienie na stanowisku Kierownika Ośrodka Terapii Hiperbarycznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego w Białymstoku
- od 2016 r. – stanowisko koordynatora Centrum Symulacji Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
- od 2013 r. – podlaski konsultant wojewódzki w dziedzinie medycyny ratunkowej

## II. OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE

Osiągnięcie naukowe wynikające z art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) to jednotematyczny cykl 6 publikacji dotyczących oceny pozahipotensyjnego działania inhibitorów enzymu konwertującego angiotensynę (ACE-I). W szczególności badania obejmowały ocenę przeciwzakrzepowego działania ACE-I w kontekście ich wpływu na śródbłonek naczyniowy, hemostazę osoczową i płytkową oraz na stres oksydacyjny. Poddano analizie bezpieczeństwo stosowania ACE-I z dożylnymi anestetykami podczas indukcji znieczulenia ogólnego.

Tytuł osiągnięcia

**„WPŁYW INHIBITORÓW ENZYMU KONWERTUJĄCEGO ANGIOTENSYNĘ NA HEMOSTAZĘ I UKŁAD SERCOWO-NACZYNIOWY."**

Łączna wartość wyniosła IF: **8.706,** MNiSW: **83**

## 1. Wykaz publikacji stanowiących podstawę habilitacji (autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa)

| L.p. | Publikacja | IFa | Punkty MNiSWb | Udział procentowy |
|---|---|---|---|---|
| **P-1.** | **MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ**, Adrian Stankiewicz, Małgorzata Malinowska-Zaprzałka, Ewa Chabielska. The influence of tissue and plasma angiotensin converting enzyme inhibitors on haemostasis with respect to experimental and clinical investigations. *Kardiologia Polska 2005; 63, supl.2: S 420-S 427*. | | | 85% |
| Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji pracy, analizie przeglądowej tematu, przygotowaniu tekstu manuskryptu, redakcji manuskryptu.<br>Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy wynosił 85%. | | | | |
| **P-2.** | **MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ,** Ewa Chabielska, Andrzej Mogielnicki, Karol Kramkowski, Andrzej Karp, A. Opadczuk, Tomasz Domaniewski, Małgorzata Malinowska-Zaprzałka, Włodzimierz Buczko. Antithrombotic effect of *tissue* and *plasma* type angiotensin converting enzyme inhibitors in experimental thrombosis in rats. *Journal of Physiology and Pharmacology 2006; 57, 2: 231–245.* | 2.974 | 20.000 | 75% |
| Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji pracy, gromadzeniu materiału badawczego, archiwizacji baz danych, interpretacji uzyskanych wyników, przygotowaniu wniosków badawczych, redakcji manuskryptu, zapewnieniu spójności całego badania.<br>Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy wynosił 75%. | | | | |
| **P-3.** | Małgorzata Malinowska-Zaprzałka, **MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ**, Jerzy Robert Ładny, Ewa Chabielska. The influence of chronic and short-term treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitor on hemodynamics during induction of general anesthesia in patients undergoing maxillofacial surgery. *Advances in Clinical and Experimental Medicine 2010; 19, 3: 329–336.* | 0.103 | 13.000 | 40% |
| Mój wkład w powstanie pracy polegał na przeglądzie piśmiennictwa, gromadzeniu materiału badawczego, archiwizacji baz danych, interpretacji uzyskanych wyników.<br>Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy wynosił 40%. | | | | |
| **P-4.** | **MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ**, Wioleta Kisiel, Karol Kramkowski, Anna Gromotowicz-Popławska, Agnieszka Zakrzeska, Adrian Stankiewicz, Patrycjusz Kołodziejczyk, Janusz Szemraj, Jerzy Robert Ładny, Ewa Chabielska. Quinapril decreases antifibrinolytic and prooxidative potential of propofol in arterial thrombosis in hypertensive rats. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System 2016; 17, 2: 12 pp. DOI:10.1177/1470320316647239* | 2.350 | 20.000 | 75% |
| Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji pracy, przeprowadzeniu doświadczenia, archiwizacji baz danych, interpretacji uzyskanych wyników, przeglądzie piśmiennictwa, przygotowaniu tekstu manuskryptu, redakcji manuskryptu, prezentacji wyników na tematycznych konferencjach.<br>Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy wynosił 75%. | | | | |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **P-5.** | **MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ**, Anna Gromotowicz-Popławska, Wioleta Kisiel, Emilia Konarzewska, Janusz Szemraj, Jerzy Robert Ładny, Ewa Chabielska. Angiotensin-converting enzyme inhibitors attenuate propofol-induced pro-oxidative and antifibrinolytic effect in human endothelial cells. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System 2017; 18, 1:10 pp. DOI: 10.1177/1470320316687* | 2.350 | 20.000 | 75% |
| Mój wkład w powstanie pracy polegał na: stworzeniu koncepcji pracy, przeprowadzeniu doświadczenia, gromadzeniu materiału badawczego, interpretacji uzyskanych wyników i kreacji wniosków badawczych, przeglądzie piśmiennictwa, redakcji manuskryptu, prezentacji wyników na tematycznych konferencjach.<br>Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy wynosił 75%. | | | | |
| **P-6.** | Małgorzata Malinowska-Zaprzałka, **MARZENA WOJEWÓDZKA**, Dorota Dryl, Stanisława Zyta Grabowska, Ewa Chabielska. Hemodynamic effect of propofol in enalapril-treated hypertensive patients during induction of general anesthesia. *Pharmacological Reports 2005; 57, 5: 675–678.* | 1.029 | 10.000 | 35% |
| Mój wkład w powstanie pracy polegał na: udziale w gromadzeniu materiału badawczego, opracowaniu uzyskanych wyników, przeglądzie piśmiennictwa oraz redakcji manuskryptu.<br>Mój proporcjonalny udział w realizacji pracy wynosił 35%. | | | | |
| | **Ogółem** | **8.706** | **83** | |
| [a] Impact factor podany jest dla roku opublikowania artykułu zgodnie ze stanem na dzień 05.03.2017 roku.<br>[b] Zgodnie z wykazem czasopism opublikowanym przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w dniu 18 grudnia 2015 roku. | | | | |

## 2. Charakterystyka badań i wyników stanowiących podstawę habilitacji

### 2.1. Układ pracy

W Autoreferacie opisałam cykl przeprowadzonych przeze mnie badań dotyczących przeciwzakrzepowego działania wybranych inhibitorów konwertazy angiotensyny (ACE-I). W poszukiwaniu mechanizmów działania skoncentrowałam się na ich wpływie na śródbłonek naczyniowy, układ hemostazy osoczowej i płytkowej oraz na parametry stresu oksydacyjnego. Uwzględniłam współdziałanie ACE-I z innymi lekami wykazującymi aktywność śródbłonkową (dożylny anestetyk). Scharakteryzowałam metody badawcze stosowane w opisanych przeze mnie badaniach. Omówiłam uzyskane wyniki stanowiące podstawę osiągnięcia, odnosząc się do postawionych przeze mnie hipotez, a także wyników innych badaczy. Podzieliłam osiągnięcie na trzy etapy badawcze, których cele scharakteryzowałam we wstępie pracy. Przedyskutowałam potencjalne znaczenie kliniczne otrzymanych przeze mnie wyników badań.

## 2.2. Wstęp i cele badań

Układ renina-angiotensyna-aldosteron (RAAS) stanowi jeden z najważniejszych hormonalnych mechanizmów regulujących stabilność hemodynamiczną ustroju poprzez wpływ na objętość płynów ustrojowych i równowagę sodowo-potasową. Głównym efektorem stymulacji RAAS jest Angiotensyna II (Ang II), powstająca w wyniku odszczepienia dipeptydu histydyloleucylowego od Angiotensyny I (Ang I) przez enzym konwertujący angiotensynę (ACE). Ang II poprzez swój receptor AT1-R wywiera większość poznanych niekorzystnych następstw, takich jak: dysfunkcja śródbłonka naczyniowego, zaburzenia w układzie fibrynolizy, aktywacja płytek krwi, nasilenie stresu oksydacyjnego, proliferacja wewnątrznaczyniowa. Wszystkie te procesy skutkują rozwojem nadciśnienia tętniczego, niewydolności serca oraz zwiększeniem ustrojowej gotowości prozakrzepowej [Brown i wsp. 2000]. Ang II ponadto może wiązać się z typem 2 receptora Ang II (AT2-R), powodując działanie przeciwstawne do wywieranego przez pobudzenie receptorów AT1-R, jednak jest to proces mało wydajny.

Obecnie wiadomo, że Ang II generowana jest nie tylko w układzie krążenia, ale także miejscowo, np. w sercu, ścianie naczyń, w mózgu czy nerkach. Pomimo że nie potwierdzono lokalnej syntezy wszystkich składowych RAAS, nie przeczy to teorii „lokalnego systemu generującego Ang II", w którym decydujące znaczenie ma wiązanie proreniny i reniny na powierzchni komórek w tkankach. Okazało się, że jest to główne źródło Ang II w ustroju. To właśnie tworzenie Ang II na poziomie tkankowym reguluje homeostazę lokalną i powoduje długofalowe niekorzystne działania naczyniowe [Paul 2006].

Za lokalne powstawanie Ang II odpowiedzialna jest ACE wykazana w dużej ilości w ścianie tętnic (m.in. aorta, płuca), w nabłonku kanalików nerkowych, jelita cienkiego, w kilku obszarach mózgowia, w monocytach różnicujących się do makrofagów oraz w komórkach dendrytycznych [Bruneval i wsp. 1986; Skidgel i wsp. 1993; Riordan 2003]. Ekspresję mRNA ACE wykryto w 72 ludzkich tkankach [Harmer i wsp. 2002], co stanowi blisko 90% ogólnej puli enzymu, jedynie 10% pozostaje we krwi krążącej oraz innych płynach ustrojowych [Bernstein i wsp. 2011; Campbell 2003]. ACE funkcjonuje na powierzchni komórek jako ektoenzym hydrolizujący krążące peptydy, ponadto może zostać odszczepiony z powierzchni komórek i w postaci rozpuszczonej, tzw. rozpuszczalna ACE „soluble ACE", krążyć w osoczu. Oprócz powszechnie znanej przemiany Ang I do Ang II, ACE degraduje bradykininę – poprzez odłączanie dipeptydu Phe-Arg z fragmentu C-końcowego, stąd nazywana jest kininazą II lub peptydazą P. U ludzi występują dwa izoenzymy

ACE: somatyczna ACE (s-ACE), rozmieszczona m.in.: w śródbłonku płuc, mózgu, nerkach, nadnerczach, sercu (dominuje tu ACE2), tętnicach, jelitach, łożysku i splocie kosmówkowym oraz zarodkowa ACE (germinalna, g-ACE) znajdowana jedynie w jądrach. Znaczenie tej ostatniej nie jest do końca wyjaśnione, istnieją jednak badania doświadczalne wskazujące na osłabienie płodności wśród myszy pozbawionych g-ACE [Hubert i wsp 1991].

Długotrwała stymulacja RAAS prowadzi do upośledzenia auto-, para- i endokrynnej funkcji śródbłonka naczyniowego (systemowy i lokalny RASS) i w konsekwencji do powikłań zakrzepowo-zatorowych. Zatem zahamowanie kluczowego enzymu, jakim jest ACE, powoduje nie tylko osłabienie niekorzystnych działań Ang II, ale też skierowuje Ang I na szlak przemian, w których powstające produkty (np. Ang 1–7, Ang IV) powodują efekty przeciwstawne do Ang II [Brosnihan 1998]. Ponadto na skutek hamowania ACE wzrastające lokalnie stężenie bradykininy, za pośrednictwem receptora $B_2$ indukuje uwalnianie tlenku azotu (NO), prostacykliny ($PGI_2$) oraz tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) [Campbell 2003].

Lekami skutecznie hamującymi ACE są inhibitory konwertazy angiotensyny (ACE-I), szeroko stosowane w farmakoterapii chorób układu sercowo-naczyniowego. Popularność swą zawdzięczają korzystnym wynikom uzyskanym w wielu badaniach klinicznych. W metaanalizie obejmującej 17 badań klinicznych, porównujących ACE-I z placebo, β-blokerami, lekami moczopędnymi oraz antagonistami receptora angiotensynowego (grupa 101 626 pacjentów wysokiego ryzyka), wykazano, że stosowanie inhibitorów ACE w porównaniu z placebo prowadzi do zmniejszenia ryzyka wystąpienia udaru mózgu o 19%, choroby niedokrwiennej serca o 16% oraz niewydolności serca o 27% na każde 5 mmHg redukcji ciśnienia tętniczego. Co ciekawe, jedynie w przypadku ACE-I utrzymywała się dodatkowa, 9%, niezależna od działania hipotensyjnego, redukcja ryzyka poważnych zdarzeń wieńcowych, lecz nie ryzyka udaru mózgu oraz niewydolności serca [BPLTTC 2007]. W innej metaanalizie obejmującej badania kliniczne porównujące inne leki hipotensyjne (β-blokery, diuretyki) z inhibitorami konwertazy angiotensyny, stwierdzono przewagę tych ostatnich w redukcji hypertrofii mięśnia sercowego oraz istotne działanie nefroprotekcyjne, pomimo zbliżonego działania hipotensyjnego [Casas 2005]. W obliczu uzyskanych różnic, w porównaniu z innymi lekami wywołującymi obniżenie ciśnienia tętniczego, należy założyć, że korzystne działanie niektórych ACE-I nie wynika jedynie z hipotensji. Analiza trzech triali [HOPE 2000, Yusuf i wsp. EUROPA 2003 PEACE 2004], w których badanymi ACE-I były perindopril, ramipryl i trandolapryl wykazało istotną redukcję wszystkich niekorzystnych zdarzeń

sercowo-naczyniowych [Dagenais i wsp. 2006]. Okazało się zatem, że w przypadku niektórych ACE-I obserwowane jest korzystniejsze działanie na układ sercowo-naczyniowy i nie jest ono warunkowane jedynie obniżeniem ciśnienia tętniczego.

Na podstawie retrospektywnej analizy obejmującej ponad 7 tys. pacjentów po przebytym zawale serca, porównującej wpływ siedmiu ACE-I: kaptopryl, enalapryl, fozynopryl, lizynopryl, chinapryl, ramipryl i perindopryl na roczną śmiertelność, wykazano najwyższą redukcję śmiertelności w przypadku ramiprylu i perindoprylu. Pewną niedoskonałością był obserwacyjny charakter badania, a co za tym idzie brak randomizacji pacjentów, brak dokładnego wywiadu medycznego, czy wiedzy o stosowanych dawkach leków. Jednak było to pierwsze badanie porównujące ACE-I „head-to-head", w którym wykazano ich niejednorodne działanie [Pilote i wsp. 2004].

**Główne cele moich badań obejmowały:**

a. Poszukiwanie potencjalnych „nowych" efektów ACE-I korzystnych w terapii, a także mechanizmów działania odpowiadających za wysoką skuteczność farmakologiczną ACE-I. Wybór odpowiedniego modelu eksperymentalnego do weryfikacji postawionych hipotez badawczych. Ocenę występowania zjawiska efektu klasy w grupie ACE-I (Etap I).
b. Analizę bezpieczeństwa stosowania ACE-I przewlekłego oraz krótkotrwałego u chorych poddawanych zabiegom operacyjnym (Etap II).
c. Wykazanie, czy korzystny wpływ ACE-I jest jedynie pochodną ich efektu hipotensyjnego czy też skuteczność ACE-I wynika z dodatkowych mechanizmów działania (ACE osoczowa i tkankowa) (Etap II).
d. Weryfikację przeciwzakrzepowego i antyoksydacyjnego działania ACE-I w badaniach *ex vivo* oraz *in vitro* w zależności od rodzaju stosowanego leku (Etap II).
e. Ocenę efektów skojarzeń lekowych ACE-I z dożylnym anestetykiem (propofolem) jako dwóch leków wykazujących silny wpływ na śródbłonek naczyniowy (Etap III).
f. Odpowiedź na pytania, czy przyjmowanie ACE-I u chorych przed zabiegiem operacyjnym, związanym bardzo często z indukcją znieczulenia za pomocą propofolu, jest dla chorych bezpieczne, czy też zachodzi konieczność odstawienia ACE-I lub wykorzystania do indukcji znieczulenia innego anestetyku? (Etap III).

Uważa się, że hamowanie ACE w tkankach reguluje homeostazę lokalną i powoduje długofalowe korzystne działania naczyniowe. Z hamowaniem ACE w osoczu wiązane są raczej

krótkotrwałe efekty hemodynamiczne. Wykazano, że u pacjentów po zawale serca imidapryl dłużej utrzymywał obniżoną aktywność ACE w aorcie w porównaniu z kaptoprylem i enalaprylem [Soejima i wsp. 1997]. Łatwiejsza tkankowa dostępność niektórych ACE-I może być związana z wieloma czynnikami, wśród których wymieniane są lipofilność, wielkość cząsteczki, penetracja tkankowa, stężenie osiągane w osoczu. Zdaniem innych autorów nie lipofilność jednak odgrywa istotną rolę, lecz obecność kanałów międzykomórkowych, od których gęstości zależy penetracja ACE-I do tkanek, jednocześnie wykluczyli oni możliwość aktywnego transportu ACE-I [Raasch i wsp. 1999]. Zatem dla leczenia chorób układu sercowo-naczyniowego związanych z dysfunkcją śródbłonka istotne znaczenie ma lokalne hamowanie aktywności ACE.

### 2.3. Informacje o metodyce badań

Badania prowadziłam w ramach pracy własnej oraz uczestnicząc w realizacji projektów innych członków zespołu badawczego (prace statutowe, granty KBN). Wszystkie procedury badawcze uzyskały akceptację Lokalnej Komisji Bioetycznej oraz Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Białymstoku. Analizie poddałam pacjentów z nadciśnieniem tętniczym oraz normotensyjnych przyjmujących przewlekle oraz krótkotrwale ACE-I. Efekt przeciwzakrzepowy ACE-I oceniłam na szczurach (samce) rasy Wistar outbred (normotensyjne), szczurach z indukowanym nadciśnieniem naczyniowo-nerkowym (2K-1C), a także na hodowlach ludzkich komórek śródbłonka żyły pępowinowej (HUVEC). W modelu zwierzęcym badania mechanizmów działania leków prowadziłam po 10 dniach stosowania leku (model przewlekły). Odzwierciedleniem modelu przewlekłego w badaniach *in vitro* była 24-godzinna inkubacja komórek (HUVEC) w obecności leku. Dla realizacji postawionych celów badawczych, w tym oceny skuteczności działania badanych leków, przeprowadziłam pomiar następujących parametrów hemodynamicznych: skurczowe ciśnienie tętnicze krwi (SABP; mmHg), rozkurczowe ciśnienie tętnicze krwi (DABP; mmHg) i częstość akcji serca (HR; bpm). Wszystkie inwazyjne procedury wykonywane były podczas znieczulenia ogólnego zwierząt: indukowałam nadciśnienie naczyniowo-nerkowe, zakrzepicę tętniczą oraz żylną. W celu oceny mechanizmów molekularnych zaangażowanych w obserwowane procesy pobierałam materiał biologiczny: krew i fragmenty narządów (płuca, serce, nerki, aortę). Analizowałam wybrane parametry w osoczu i homogenatach tkanek, stosując standardowe testy laboratoryjne oraz analizy technikami immunoenzymatycznymi z wykorzystaniem czytnika ELISA. Oznaczenia w supernatancie

w badaniach *in vitro* wykonane były metodą qRT-PCR, ELISA oraz za pomocą standardowych testów laboratoryjnych.

Włączone do cyklu prace eksperymentalne oparte są na modelu zakrzepicy żylnej i tętniczej u szczura normotensyjnego lub z nadciśnieniem naczyniowo-nerkowym (2 kidney-1 clip). W zastosowanym modelu nadciśnienie tętnicze wywołałam podwiązaniem tętnicy nerkowej wg zmodyfikowanej metody Goldblatta. Patomechanizm rozwoju nadciśnienia w stosowanym modelu jest bliski patologii obserwowanej u pacjentów z nadciśnieniem pochodzenia nerkowego i aktywowanym układem RAAS. Wskutek zaciśnięcia tętnicy nerkowej jednej nerki dochodzi do wzrostu aktywności reninowej osocza i zwiększenia syntezy Ang II. Ta pobudza układ współczulny, stymuluje wydzielanie aldosteronu, wazopresyny, endoteliny oraz reabsorbcję sodu i wody w nerkach, tym samym powoduje rozwój nadciśnienia tętniczego. Dodatkowo utrzymujące się wysokie stężenie Ang II lokalnie stymuluje proliferację mięśni gładkich naczyń, przyczyniając się do utrwalenia nadciśnienia tętniczego. Wzrost ciśnienia tętniczego krwi zatem związany jest z dysfunkcją śródbłonka naczyniowego, obniżoną produkcją NO i $PGI_2$, co prowadzi do zwiększenia potencjału prozakrzepowego ściany naczyń, osocza oraz elementów morfotycznych.

W **zakrzepicy żylnej,** indukowanej zastojem krwi w żyle głównej dolnej wg Reyers i wsp. we własnej modyfikacji [Reyers i wsp. 1989, Wojewódzka-Żelezniakowicz i wsp. 2006], uzyskałam wywołane stazą założoną na żyłę główną dolną, zaburzenia laminarnego przepływu krwi, wzrost sił ścinających i miejscowe niedotlenienie. Zakrzep powstawał wskutek zwiększenia indukowanej niedotlenieniem ekspresji molekuł adhezyjnych w komórkach śródbłonka i wzrostu ekspresji czynnika tkankowego w monocytach. Wykazano, że zakrzep żylny składa się z dwóch obszarów: bogaty w erytrocyty i fibrynę tzw. czerwony zakrzep, który wiąże zakrzep ze ścianą żyły, oraz bogaty w płytki krwi tzw. biały zakrzep, który tworzy masę skrzepliny niezwiązanej ze ścianą naczynia. Te obserwacje wskazują, że w procesie tworzenia zakrzepu żylnego aktywacja krzepnięcia poprzedza aktywację i agregację płytek oraz tłumaczy gorszą skuteczność leków przeciwpłytkowych w prewencji i leczeniu zakrzepicy żylnej w porównaniu z lekami przeciwkrzepliwymi. Założyłam więc, że ten model badawczy umożliwi obserwację wpływu leku na różne elementy składające się na proces inicjacji i propagacji zakrzepu żylnego.

**Zakrzepicę tętniczą** indukowałam prądem stałym w tętnicy szyjnej wspólnej wg Schumacher i wsp. w modyfikacji własnej [Schumacher i wsp. 1993; Wojewódzka-Żelezniakowicz i wsp. 2006]. Uszkodzenie śródbłonka i głębszych warstw naczynia spowodowane prądem stałym inicjowało

aktywację płytek krwi i formowanie bogatopłytkowego zakrzepu. Ocena morfologii zakrzepu wykazuje skład zbliżony do zakrzepu występującego w ludzkich naczyniach tętniczych [Zakrzeska i wsp. 2015]. Ponieważ zakrzep tętniczy jest bogatopłytkowy, tłumaczy to skuteczność leków przeciwpłytkowych, możliwa staje się także analiza wpływu ACE-I na płytki krwi. Monitorowanie w trakcie eksperymentu przepływu krwi w naczyniu przy pomocy sondy typu Doppler pozwalało na ocenę drożności naczynia oraz dynamikę rozbudowy zakrzepu.

## 2.4. Opis wyników badań stanowiących osiągnięcie i dyskusja

### Etap I

Celem pierwszego etapu było wykazanie przeciwzakrzepowego działania różnych ACE-I, wybranych w oparciu o dokonany przegląd literatury tematu. Jako model badawczy zastosowałam zakrzepicę tętniczą i żylną, pozwalające na ocenę zaangażowania różnych układów doprowadzających do powstania zakrzepu (śródbłonek, płytki krwi, czynniki krzepnięcia osoczowego oraz elementy morfotyczne krwi). Oceniłam występowanie zjawiska efektu klasy w grupie ACE-I.

**P-1. MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ**, Adrian Stankiewicz, Małgorzata Malinowska-Zaprzałka, Ewa Chabielska. The influence of tissue and plasma angiotensin converting enzyme inhibitors on haemostasis with respect to experimental and clinical investigations. *Kardiologia Polska 2005; 63, supl.2: S 420-S 427.*

W obliczu niejednoznacznych wyników badań dotyczących przeciwzakrzepowego działania ACE-I oraz toczącej się dyskusji nad zjawiskiem efektu klasy w tej grupie leków, poddałam ocenie literaturę dotyczącą wpływu ACE-I na układ hemostazy. Ponieważ brak jest danych klinicznych, w których wykazano bezpośrednie działanie przeciwzakrzepowe ACE-I, o efekcie tym można sądzić pośrednio w oparciu o mechanizmy zbadane u zwierząt oraz *in vitro*. Dokonałam analizy tkankowych i osoczowych ACE-I w różnych modelach zakrzepicy. Oceniłam wpływ leków na właściwości śródbłonka naczyniowego oraz na płytki krwi w kontekście oddziaływania na układ krzepnięcia i fibrynolizy. Wykazałam ponadto, że potencjalne korzyści ACE-I opisane na poziomie eksperymentalnym nie zawsze znajdowały odzwierciedlenie w późniejszych badaniach klinicznych. Wśród przyczyn tego zjawiska mogła znajdować się: niejednorodność dawek stosowanych ACE-I, interakcje lekowe, a także obciążenia chorobowe pacjenta nie zawsze odtworzone w badaniach eksperymentalnych.

Wynikiem przeprowadzonej analizy piśmiennictwa było usystematyzowanie aktualnej wiedzy na temat wpływu ACE-I na układ hemostazy. Opisane w publikacji zależności stały się punktem wyjścia do poszukiwania mechanizmów odpowiedzialnych za stwierdzane w badaniach eksperymentalnych przeciwzakrzepowe działanie ACE-I.

**P-2. MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ,** Ewa Chabielska, Andrzej Mogielnicki, Karol Kramkowski, Andrzej Karp, Andrzej Opadczuk, Tomasz Domaniewski, Małgorzata Malinowska-Zaprzałka, Włodzimierz Buczko. Antithrombotic effect of *tissue* and *plasma* type angiotensin converting enzyme inhibitors in experimental thrombosis in rats. *Journal of Physiology and Pharmacology 2006; 57, 2: 231–245*.

W związku z opisywaną redukcją niekorzystnych zdarzeń sercowo-naczyniowych przez niektóre ACE-I, a także utrzymywaniu tego efektu niezależnie od obniżenia ciśnienia tętniczego, porównałam przeciwzakrzepowe działania ACE-I o silniejszym potencjale wiązania z tkankami z ACE-I o słabych zdolnościach hamowania ACE tkankowej, a także ich wpływ na procesy hemostazy u szczurów normotensyjnych. Analizie poddałam kaptopryl i enalapryl należące do ACE-I o niskiej penetracji tkankowej oraz perindopril i chinapryl uznane za leki cechujące się wysoką zdolnością hamowania ACE błonowej. Zastosowałam model przewlekłej farmakoterapii (10 dni) w dawkach wywołujących zbliżone działanie hipotensyjne. Ze względu na różnice w zaangażowaniu poszczególnych składowych układu krzepnięcia w procesie zakrzepowym żylnym i tętniczym, u części zwierząt wywoływałam zakrzepicę żylną, poprzez podwiązanie żyły głównej dolnej, u części zakrzepicę tętniczą indukowaną prądem stałym. Do oceny wpływu ACE-I na zakrzepicę wybrałam modele dobrze scharakteryzowane i opisane, jako wrażliwe na działanie związków fibrynolitycznych, przeciwkrzepliwych i przeciwpłytkowych (pkt 2.3). Wyrazem wpływu badanych leków na układ krzepnięcia był pomiar masy zakrzepu. W poszukiwaniu mechanizmów działania przeciwzakrzepowego badanych leków oznaczyłam we krwi szczurów tworzenie fibryny, adhezję płytek krwi do kolagenu, agregację płytek krwi we krwi pełnej oraz parametry hemostazy osoczowej, takie jak: czas protrombinowy (PT), czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT), a także czas lizy skrzepu euglobulinowego (ECLT).

W pracy tej po raz pierwszy porównałam ACE-I tkankowe i osoczowe w dwóch modelach zakrzepicy oraz zachowanie się układów hemostazy płytkowej i osoczowej. Wykazałam, że chinapryl i perindopril (ACE-I tkankowe) obniżały masę zakrzepu tętniczego i żylnego. Odzwierciedleniem mniejszej dynamiki tworzenia zakrzepu w świetle tętnicy szyjnej był najwyższy przepływ krwi w naczyniu, a także najmniej incydentów okluzji naczynia (zamknięcia światła tętnicy przez

zakrzep) u szczurów otrzymujących chinapryl.

Spośród ACE-I osoczowych jedynie kaptopryl istotnie obniżał masę zakrzepu, lecz tylko w modelu zakrzepicy żylnej. Oznacza to, że lek ten może oddziaływać przede wszystkim na osoczowe składniki układu krzepnięcia jako dominujące w zakrzepicy żylnej. Wiadomym jest, że proces ten w naczyniu żylnym zależny jest głównie od upośledzenia procesów fibrynolizy i aktywacji kaskady krzepnięcia [Łopaciuk 2002]. Podobne działanie kaptoprylu było wykazane wcześniej przez innych badaczy, którzy dowiedli, że silniejsze działanie przeciwzakrzepowe kaptoprylu niż enalaprylu może wynikać z obecności w cząsteczce leku grupy sulfhydrylowej, która zwiększa biodostępność tlenku azotu (NO) oraz eliminuje wolne rodniki tlenowe [Pawlak i wsp. 1998; Pawlak i wsp. 2000].

Pośród badanych mechanizmów mogących mieć wpływ na obserwowany silniejszy efekt przeciwzakrzepowy tkankowych ACE-I, należy wymienić hamowanie tworzenia fibryny, wewnątrzpochodnego i zewnątrzpochodnego toru krzepnięcia osoczowego (wydłużanie PT i aPTT) oraz skrócenie ECLT. Hamujący wpływ chinaprylu i perindoprylu na zewnątrzpochodny oraz wewnątrzpochodny tor aktywacji krzepnięcia korelował ze spadkiem masy zakrzepu tętniczego. Hamowanie zewnątrzpochodnej drogi krzepnięcia przez tkankowe ACE-I mogło wynikać ze zmniejszonego uwalniania ze śródbłonka naczyniowego oraz z monocytów czynnika tkankowego (TF), który aktywuje tę drogę krzepnięcia [Napoleone i wsp. 2000]. Efekt tkankowych ACE-I mógł być także skutkiem wzrostu uwalniania ze śródbłonka $PGI_2$ oraz NO, wykazano bowiem, że obie te substancje przejawiają zdolność obniżania ekspresji TF [Ridker i wsp. 1993].

Z kolei czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT) ocenia odcinek wspólnej obu torom kaskady krzepnięcia, rozpoczynający się aktywacją trombiny. Hamujący wpływ tkankowych ACE-I na wewnątrzpochodny tor aktywacji krzepnięcia jest prawdopodobnie pośredniczony przez bradykininę i wzrost uwalniania ze śródbłonka NO i $PGI_2$, które – jak wykazano wcześniej – obniżają osoczowy poziom kompleksów trombina-antytrombina (TAT) oraz fragmentów F1+2 będących wskaźnikiem generacji trombiny [Skogby i wsp. 2003]. Potwierdzeniem powyższego mechanizmu działania jest wykazany dla ramiprylu spadek ilości kompleksów trombina – antytrombina u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [Ekholm i wsp 2002] oraz spadek stężenia fibrynogenu w osoczu po podawaniu perindoprylu [Fogari i wsp 2002]. Brak wpływu kaptoprylu na wewnątrzpochodny tor aktywacji krzepnięcia jest zgodny z wcześniejszymi badaniami wykonanymi u szczurów normotensyjnych [Pawlak i wsp. 2000].

Jednym z najwcześniejszych etapów tworzenia skrzepliny w naczyniu głównie tętniczym jest adhezja płytek krwi do odsłoniętej warstwy podśródbłonkowej z następczą ich agregacją. Okazało się, że wszystkie badanie ACE-I wykazywały się istotnym hamowaniem adhezji i agregacji płytek krwi (jedynie w przypadku kaptoprylu obserwowałam brak wpływu na agregację). Oznacza to, że hamowanie adhezji i agregacji płytek krwi nie jest dominującym mechanizmem odpowiadającym za silniejsze przeciwzakrzepowe działanie tkankowych ACE-I.

**Wnioski**

1. Tkankowe ACE-I (chinapryl oraz perindopryl) wykazują silniejsze działanie przeciwzakrzepowe w modelu zakrzepicy żylnej i tętniczej u szczura.
2. W mechanizmie przeciwzakrzepowego działania chinaprylu i perindoprylu istotny jest hamujący wpływ na zewnątrz- i wewnątrzpochodny tor aktywacji krzepnięcia. W badaniu po raz pierwszy wykazano wpływ tkankowych ACE-I – chinaprylu i perindoprylu na oba szlaki kaskady krzepnięcia osoczowego.
3. Nie wykazano natomiast istotnego wpływu kaptoprylu i enalaprylu na aktywność antykoagulacyjną osocza.
4. Zarówno tkankowe ACE-I, jak i osoczowe w porównywalnym stopniu wykazywały aktywność przeciwpłytkową.

**Etap II**

W obliczu uzyskanego silnego działania hipotensyjnego wszystkich ACE-I badanych w I etapie, oceniono bezpieczeństwo ich stosowania u pacjentów poddawanych zabiegom operacyjnym. Ponadto zbadano ryzyko hipotensji okołooperacyjnej w przypadku chorych przyjmujących ACE-I przewlekle lub krótkotrwale (doraźnie) w celu uzyskania obniżenia ciśnienia tętniczego przed operacją (P-3). Oceniono parametry hemodynamiczne u szczurów z indukowanym nadciśnieniem tętniczym w modelu przewlekłego stosowania chinaprylu (P-4) ze szczególnym uwzględnieniem niepożądanych hipotensji.

Wykazane w etapie I właściwości przeciwzakrzepowe chinaprylu (obok perindoprylu) u szczurów normotensyjnych stały się celem dalszego poszukiwania mechanizmów tegoż działania. Oceniono hemostazę pierwotną, dostępność biologiczną NO, fibrynolizę, stres oksydacyjny u szczurów z nadciśnieniem tętniczym.

Do dalszych rozważań nad mechanizmami związanymi z przeciwzakrzepowym działaniem ACE

i rolą śródbłonka naczyniowego użyto hodowli ludzkich komórek śródbłonka żyły pępowinowej (HUVEC), co pozwoliło wyeliminować udział komponenty hemodynamicznej w działaniu przeciwzakrzepowym ACE-I.

**P-3.** Małgorzata Malinowska-Zaprzałka, **MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ**, Jerzy Robert Ładny, Ewa Chabielska. The influence of Chronic and short-term treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitor on hemodynamics during induction of general anesthesia in patients undergoing maxillofacial surgery. *Advances in Clinical and Experimental Medicine 2010; 19, 3: 329–336*.

W pracy oceniono ryzyko stosowania ACE-I w okresie okołozabiegowym ze względu na niejasne dane dotyczące występowania niepożądanej hipotensji u pacjentów przygotowywanych do leczenia operacyjnego. Badaniem objęto grupę 152 chorych poddanych zabiegom naprawczym po obrażeniach twarzoczaszki. Oceniono wartości skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego oraz czynność serca w trzech grupach chorych podczas wprowadzenia do znieczulenia. Grupę A stanowili pacjenci z przewlekle leczonym nadciśnieniem tętniczym, grupę B – chorzy leczeni krótkotrwale (3–4 dawki) podczas hospitalizacji ze względu na konieczność obniżenia ciśnienia tętniczego przed operacją. Grupę kontrolną stanowili pacjenci z prawidłowym ciśnieniem tętniczym. Wszyscy ci chorzy nie byli obciążeni istotnym ryzykiem zabiegu operacyjnego (ASA 1 lub 2). We wszystkich badanych grupach wykazano podobny wzrost czynności serca podczas intubacji dotchawiczej. Krótkotrwałe leczenie enalaprylem umiarkowanego nadciśnienia tętniczego pozwalało skutecznie obniżyć zarówno skurczowe, jak i rozkurczowe ciśnienie tętnicze. Podczas wprowadzenia do znieczulenia enalapryl podawany krótkotrwale wywoływał wyższe wartości ciśnienia tętniczego już w grupie chorych leczonych przewlekle. Potwierdzono także umiarkowane działanie hipotensyjne ACE-I podczas wprowadzenia do znieczulenia ogólnego w grupie chorych leczonych przewlekle.

Dostępne są badania, w których obserwowano silną hipotensję po pierwszej dawce ACE-I [Mangano 1998]. W naszym badaniu nie obserwowaliśmy tego zjawiska, co można tłumaczyć stosowaniem najmniejszych, skutecznych dawek leku. Inni autorzy w przypadku perindoprylu obserwowali utrzymywanie się efektu hipotensyjnego pomimo pominięcia dawki leku. Nie jest to zaskoczeniem, ponieważ w przypadku ACE-I silniej wiążących się z ACE w tkankach może utrzymywać się hamowanie enzymu konwertującego angiotensynę tamże, pomimo braku hamowania ACE w osoczu [Eyraud i wsp. 1998]. Ponadto istnieją dane wskazujące na to, że ten rodzaj leczenia przeciwnadciśnieniowego pozwala na zastosowanie niższych dawek anestetyków

do indukcji znieczulenia w celu uzyskania skutecznego poziomu anestezji, bez pogorszenia hemodynamiki [Licker i wsp. 1998]. Nie bez znaczenia pozostaje fakt, że pacjenci do indukcji znieczulenia otrzymywali etomidat, który nie wykazuje tak silnego efektu hipotensyjnego jak propofol. Łagodna hipotensyjna reakcja na indukcję znieczulenia obserwowana w naszym badaniu nie wymagała agresywnego leczenia (efedryny, katecholamin). Skuteczna i wystarczająca była płynoterapia.

**Wnioski**

1. Wyniki sugerują, że zaprzestanie leczenia ACE-I chorych z nadciśnieniem tętniczym, nieobciążonych wysokim ryzykiem zabiegu, nie jest konieczne przed zabiegiem chirurgicznym.
2. Już krótkotrwałe przygotowanie tymi lekami chorych z umiarkowanym nadciśnieniem pozwala obniżyć jego wartości w dniu zabiegu chirurgicznego i podczas znieczulenia do zabiegów naprawczych po urazach twarzoczaszki, poprawiając bezpieczeństwo pacjenta.
3. Wprowadzenie do znieczulenia pacjentów przyjmujących ACE-I za pomocą etomidatu zwiększa ich bezpieczeństwo poprzez zapobieganie ciężkim hipotensjom.

**P-4. MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ**, Wioleta Kisiel, Karol Kramkowski, Anna Gromotowicz-Popławska, Agnieszka Zakrzeska, Adrian Stankiewicz, Patrycjusz Kołodziejczyk, Janusz Szemraj, Jerzy Robert Ładny, Ewa Chabielska. Quinapril decreases antifibrinolytic and prooxidative potential of propofol in arterial thrombosis in hypertensive rats. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System 2016; 17, 2: 12 pp. DOI:10.1177/ 1470320316647239.*

Celem badania była ocena wpływu chinaprylu na hemodynamikę oraz proces zakrzepicy tętniczej, hemostazę pierwotną, parametry fibrynolizy, dostępność biologiczną NO, a także stres oksydacyjny u szczurów z indukowanym nadciśnieniem tętniczym (pkt 2.3). Wybrałam model przewlekłego stosowania chinaprylu w dawce 3 mg/kg m.c. przez 10 dni. Efekt przeciwzakrzepowy leku oceniłam, mierząc masę zakrzepu powstającego w wyniku stymulacji prądem stałym tętnicy szyjnej wspólnej. Oznaczyłam w surowicy zwierząt parametry fibrynolizy zależne od śródbłonka, takie jak: tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA), inhibitor aktywatora plazminogenu 1 (PAI-1), inhibitor fibrynolizy aktywowany trombiną (TAFI). Ponadto oznaczyłam następujące parametry stresu oksydacyjnego: oksydaza NAD(P)H, dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), nadtlenek wodoru ($H_2O_2$), dialdehyd malonylowy (MDA), ekspresję mRNA syntazy tlenku azotu endotelialnej i indukowalnej (eNOS oraz iNOS) w homogenacie aorty, oznaczyłam biodostępność NO ($NO_2^-$/ $NO_3^-$) w osoczu.

Wykazałam, że chinapryl podawany przewlekle szczurom nadciśnieniowym istotnie redukował ciśnienie tętnicze bez incydentów zagrażającej życiu hipotensji. Ocena przepływu w tętnicy szyjnej podczas propagacji zakrzepu wykazała najdłuższy czas do zamknięcia naczynia, najniższą masę zakrzepu oraz w najwyższym odsetku zachowany przepływ w naczyniu w końcu eksperymentu.

Chinapryl, podobnie jak we wcześniej opisanym badaniu (P-2), wykazał działanie przeciwzakrzepowe również u zwierząt z nadciśnieniem tętniczym, jednak mechanizmy zaangażowane w to działanie były częściowo różne od tych obserwowanych u zwierząt normotensyjnych. Składową działania przeciwzakrzepowego chinaprylu była poprawa funkcji śródbłonka naczyniowego poprzez wzrost stężenia t-PA (wskutek zmniejszenia degradacji bradykininy), obniżenie stężenia PAI-1 oraz TAFI (hamowanie Ang II). Poza działaniem profibrynolitycznym udowodniłam, że chinapryl skutecznie zmniejszał adhezję płytek krwi do kolagenu *ex vivo*.

Według danych z piśmiennictwa, hamowanie aktywacji płytek krwi przez ACE-I może być spowodowane przez NO, $PGI_2$, jak również przez śródbłonkowy czynnik hiperpolaryzujący zależny od CYP2C9 (EDHF) [Bassenge 1991; Krotz i wsp. 2004]. W mojej pracy po raz pierwszy wykazałam obniżenie biodostępności NO w osoczu oraz zmniejszenie ekspresji iNOS, przy braku zmian ekspresji eNOS u zwierząt z nadciśnieniem tętniczym otrzymujących chinapryl. Pomimo że w badaniach eksperymentalnych i klinicznych opisywane jest zwiększenie ekspresji NOS w konsekwencji prowadzące do wzrostu biodostępności NO [Bachetti i wsp. 2001], wyniki uzyskane przeze mnie wskazują, że działanie przeciwzakrzepowe i przeciwpłytkowe chinaprylu obserwowane u szczurów z nadciśnieniem tętniczym jest zależne raczej od obniżonej ekspresji iNOS, a tym samym zmniejszenia stresu oksydacyjnego. Chou i wsp. [1998] wykazali, że u samców szczurów z nadciśnieniem tętniczym (SHR) zmniejszona jest aktywność i ekspresja eNOS, podczas gdy ekspresja iNOS jest wyraźnie zwiększona (ze względu na zwiększony stres oksydacyjny), a zatem wytwarzanie NO może być niezmienione, a nawet zwiększone.

Biorąc pod uwagę brak wpływu chinaprylu na biodostępność NO u szczurów z nadciśnieniem tętniczym, jego działanie profibrynolityczne (śródbłonkowe) i hamujące aktywację płytek krwi może być powodowane przez EDHF i $PGI_2$ uwalniane pod wpływem bradykininy [Rahman i wsp 2014].

Obserwowane w pracy obniżenie ekspresji iNOS powodowane przez chinapryl zmniejszało poziom MDA w surowicy i aktywność oksydazy NADPH w aorcie. Zatem antyoksydacyjne działanie

chinaprylu było wynikiem obniżenia powstawania Ang II oraz promowania wytwarzania Ang- (1–7), co zmniejszało powstawanie ROS i fosforylację kinazy c-Src przez Ang II w nieuszkodzonych komórkach śródbłonka.

**Wnioski**

1. Właściwości przeciwzakrzepowe chinaprylu zależą od aktywności fibrynolitycznej, w tym znacznego spadku stężenia PAI-1 oraz zwiększenia czasu lizy skrzepu euglobulin w mechanizmach zależnych od hamowania syntezy Ang II, a także zależnego od bradykininy wzrostu stężenia t-PA.
2. U szczurów z nadciśnieniem naczyniowo-nerkowym chinapryl hamował adhezję płytek krwi do kolagenu, niezależnie od stężenia NO.
3. Istotnym mechanizmem przeciwzakrzepowego działania chinaprylu jest hamowanie iNOS i związane z tym obniżanie stresu oksydacyjnego.
4. Działanie przeciwzakrzepowe chinaprylu nie jest w pełni zależne od aktywności eNOS u szczurów z nadciśnieniem tętniczym, podczas gdy u szczurów normotensyjnych ta zależność i wzrost poziomu NO wydaje się być dominującym mechanizmem.

**P-5. MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ**, Anna Gromotowicz-Popławska, Wioleta Kisiel, Emilia Konarzewska, Janusz Szemraj, Jerzy Robert Ładny, Ewa Chabielska. Angiotensin-converting enzyme inhibitors attenuate propofol-induced pro-oxidative and antifibrinolytic effect in human endothelial cells. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System 2017; 18, 1: 10 pp. DOI: 10.1177/1470320316687.*

Praca jest kontynuacją poszukiwania mechanizmów działania przeciwzakrzepowego ACE-I tkankowych i osoczowych. Ukierunkowana została na ocenę fibrynolizy śródbłonkowej oraz stresu oksydacyjnego. Badanie to zostało przeprowadzone w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem HUVEC ze względu na konieczność wyłączenia komponenty hemodynamicznej z rozważań na temat działania tkankowych i osoczowych ACE-I. Ponadto w pracy poddałam analizie wpływ ACE-I tkankowych (chinaprylat) i osoczowych (enalaprylat) na śródbłonek naczyniowy w warunkach *in vitro*. Komórki były inkubowane 24 godziny (model przewlekły) w obecności chinaprylatu lub enalaprylatu. Oceniłam te same parametry jak w pracy P-4 w odniesieniu do aktywności śródbłonka w hodowli komórkowej.

Komórki śródbłonka naczyniowego są bogatym źródłem t-PA oraz PAI-1. Tak więc procesy fibrynolizy mogą być kontrolowane lokalnie, na poziomie tkankowym, gdzie główną rolę odgrywa między innymi tkankowa ACE. W pracy wykazałam, że w przypadku obu ACE-I (tkankowego

i osoczowego) dochodziło do zwiększenia stężenia t-PA i spadku stężeń PAI-1 oraz TAFI (jedynie dla chinaprylatu), co bezpośrednio wskazuje na wysoką aktywność profibrynolityczną śródbłonka stymulowaną ACE-I. Opisywano istotne zależności pomiędzy fibrynolizą, a parametrami stresu oksydacyjnego. Wykazano, że stres oksydacyjny wywoływany przez $H_2O_2$ w HUVEC spowodował wzrost stężenia PAI-1, t-PA, u-PA (urokinazowego aktywatora plazminogenu) oraz gęstości jego receptora (u-PAR) [Oszajca i wsp. 2008]. Zaobserwowano także w HUVEC, że oksydaza NADPH jest głównym źródłem reaktywnych form tlenu (ROS) w komórkach śródbłonka wydzielających PAI-1 [Jaulmes i wsp. 2009]. W prezentowanym badaniu wykazałam istotne obniżenie stężenia $H_2O_2$, aktywności oksydazy NADPH prawdopodobnie wtórnie do obniżenia uwalniania PAI-1 z HUVEC. Chinapryl zaskakująco obniżał aktywność SOD, obdarzonej zdolnością hamowania agregacji płytek krwi i poprawy funkcji śródbłonka, co wykazano w tętnicach wieńcowych psów [Yao i wsp 2003; Peire 1998].

Podobnie do poprzedniego badania (P-4) nie zaobserwowałam wzrostu ekspresji eNOS oraz wzrostu biodostępności NO w przypadku obu ACE-I. Natomiast ponownie doszło do istotnego obniżenia iNOS. Wyniki *in vitro* potwierdzają obserwowany uprzednio niezależny od NO mechanizm działania ACE-Is, związany raczej z bradykinino-zależnym uwalnianiem $PGI_2$ oraz EDHF. Można zatem sądzić, że uwalnianie t-PA ze śródbłonka naczyniowego nie zależy od biodostępności NO lecz od EDHF oraz od zmniejszenia jego degradacji przez PAI-1. Pomimo że wykazałam zmniejszenie stężenia TAFI powodowane przez chinaprylat, mechanizm tego działania jest nadal niejasny i wydaje się być niezależny od PAI-1. Wbrew przewidywaniom w opisanej pracy *in vitro* nie zaobserwowałam istotnych różnic w antyoksydacyjnym oraz profibrynolitycznym działaniu chinaprylatu i enalaprylatu. W badaniu dotyczącym hamowania aktywności ACE w osoczu i homogenatach tkankowych przez enalapryl i perindopryl (praca w przygotowaniu) jednoznacznie wykazałam istotne, zależne od dawki hamowanie ACE tkankowej jedynie w przypadku perindoprylu. Oba ACE-I istotnie hamowały ACE osoczową. W pracy zaobserwowałam, że hamowanie ACE w osoczu jest wystarczające do osiągnięcia efektu hipotensyjnego. Hamowanie masy zakrzepu obserwowane w przypadku perindoprylu korelowało jedynie z dawką leku i hamowaniem ACE w ścianie aorty.

Oznacza to, że mechanizm działania wszystkich ACE-I w obrębie grupy jest taki sam, zaś silniejsza redukcja masy zakrzepu w przypadku tkankowych ACE-I może wynikać z budowy cząsteczki leku i jej łatwiejszej penetracji do śródbłonka naczyniowego.

**Wnioski**

1. Oba ACE-I w podobnym stopniu zwiększały wydzielanie t-PA oraz zmniejszały uwalnianie PAI-1 oraz TAFI (w przypadku chinaprylatu) ze śródbłonka naczyniowego.
2. Antyoksydacyjne działanie ACE-I spowodowane było osłabieniem syntezy Ang II, a tym samym obniżeniem stężenia PAI-1 i powodowanego przez niego stresu oksydacyjnego.
3. W HUVEC chinaprylat i enalaprilat, pomimo że *in vivo* różniły się działaniem przeciwzakrzepowym, w badaniu *in vitro* w podobnym stopniu zmniejszały stres oksydacyjny i zwiększały fibrynolizę.
4. Bezpośrednia ekspozycja śródbłonka naczyniowego na działanie enalaprylatu i chinaprylatu skutkowała podobnymi efektami dla obu ACE-I. Sugerowaną przyczyną różnic w obserwowanym działaniu przeciwzakrzepowym ACE-I jest budowa cząsteczki leku, wpływająca na możliwość dotarcia do śródbłonka naczyniowego.

**Etap III**

Ostatnim etapem badań była ocena efektów skojarzeń lekowych ACE-I z dożylnym anestetykiem (propofolem) jako dwóch leków wykazujących silny wpływ na śródbłonek naczyniowy i często łączonych w terapii. Poddałam ocenie siłę przeciwzakrzepowego działania ACE-I w odniesieniu do uzyskanych uprzednio wyników. Istotna stała się odpowiedź na pytania, czy przyjmowanie ACE-I przez chorych przed zabiegiem operacyjnym, związanym bardzo często z indukcją znieczulenia za pomocą propofolu, jest bezpieczne, czy też zachodzi konieczność odstawienia ACE-I lub wykorzystania do indukcji znieczulenia innego anestetyku.

**P-6**. Małgorzata Malinowska-Zaprzałka, **MARZENA WOJEWÓDZKA**, Dorota Dryl, Stanisława Zyta Grabowska, Ewa Chabielska. Hemodynamic effect of propofol in enalapril-treated hypertensive patients during induction of general anesthesia. *Pharmacological Reports 2005; 57, 5: 675–678.*

Praca ta stanowiła punkt wyjścia do równolegle prowadzonych badań nad bezpieczeństwem stosowania dożylnych anestetyków u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, przewlekle leczonych ACE-I. Pacjenci otrzymujący przewlekle enalapryl poddani zostali indukcji znieczulenia ogólnego za pomocą etomidatu lub propofolu. Chorzy poza nadciśnieniem tętniczym nie posiadali innych istotnych obciążeń chorobowych. Grupę kontrolną stanowili pacjenci nie obciążeni nadciśnieniem tętniczym. Pacjenci z grupy badanej ostatnią dawkę enalaprylu otrzymywali rano przed zabiegiem operacyjnym. Wykazano, że propofol u pacjentów leczonych enelaprylem najsilniej obniżał

zarówno skurczowe, jak i rozkurczowe ciśnienie tętnicze oraz powodował najwięcej epizodów hipotensji. U chorych nie leczonych ACE-I propofol powodował jedynie łagodne obniżenie ciśnienia tętniczego. Indukcja znieczulenia za pomocą etomidatu nie zmieniała wartości ciśnienia tętniczego zarówno u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym, jak i w grupie kontrolnej.

Ponieważ oba leki (propofol i enalapryl) wykazywały aktywność hipotensyjną, a ich łączne podawanie nasilało ten efekt, założyliśmy, że podstawowym mechanizmem ich działania jest uwalnianie naczyniorozszerzającego NO. Wiadomo było bowiem, w oparciu o doniesienia z literatury, że ACE-I powodowały wzrost jego uwalniania zaś niewyjaśniony pozostawał mechanizm działania propofolu. W naszym badaniu nie stwierdziliśmy głębokiej hipotensji u chorych z nadciśnieniem tętniczym przewlekle leczonych ACE-I podczas indukcji znieczulenia ogólnego przy użyciu etomidatu. Także w literaturze nie opisywano wpływu etomidatu na śródbłonek naczyniowy. Przypuszczaliśmy zatem, że propofol może oddziaływać na śródbłonek naczyniowy, potęgując działanie ACE-I.

Poszukując mechanizmów odpowiedzialnych za hipotensję u zwierząt, opisane wyżej badanie zostało odtworzone w warunkach doświadczalnych u szczurów z nadciśnieniem naczyniowo-nerkowym oraz *in vitro*.

**Wnioski**

1. Propofol podawany pacjentom nieleczonym z powodu nadciśnienia tętniczego nie powodował istotnych hipotensji.
2. W pacjentów z nadciśnieniem tętniczym leczonych przewlekle ACE-I propofol powodował istotną hipotensję.
3. Podczas indukcji znieczulenia ogólnego za pomocą etomidatu nie obserwowano spadków ciśnienia tętniczego.
4. Wyjaśnienie przyczyn występowania hipotensji podczas stosowania ACE-I oraz propofolu wymaga dalszych badań.

**P-4. MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ**, Wioleta Kisiel, Karol Kramkowski, Anna Gromotowicz-Popławska, Agnieszka Zakrzeska, Adrian Stankiewicz, Patrycjusz Kołodziejczyk, Janusz Szemraj, Jerzy Robert Ładny, Ewa Chabielska. Quinapril decreases antifibrinolytic and prooxidative potential of propofol in arterial thrombosis in hypertensive rats. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System* 2016: 17, 2, 12 pp. DOI:10.1177/ 1470320316647239.

Drugą składową badania P-4 była ocena interakcji ACE-I z dożylnym anestetykiem obdarzonym właściwościami wywoływania hipotensji i oddziaływania na śródbłonek naczyniowy. Była to

pierwsza praca, w której wieloczynnikowo oceniony został wpływ propofolu na układ krzepnięcia. W badaniu tym zwierzęta otrzymujące chinapryl lub placebo po uprzednim znieczuleniu ogólnym miały podłączony wlew ciągły propofolu trwający 100 minut i indukowaną zakrzepicę tętniczą opisaną wcześniej (rozdz. 2.3).

Wykazałam, że propofol sam oraz podany zwierzęciu z nadciśnieniem tętniczym uprzednio otrzymującemu chinapryl istotnie obniżał ciśnienie tętnicze. Co interesujące, propofol dodany do chinaprylu powodował najwyższą śmiertelność u szczurów. Mogło to być wynikiem znaczącej hipotensji po podaniu obu leków na skutek uwalniania silnych czynników naczyniorozszerzających EDHF, $PGI_2$ (opisywane w przypadku chinaprylu) oraz NO (wykazanego dla propofolu). Ponadto nie bez znaczenia pozostawał wpływ propofolu na osłabienie wentylacji poprzez hamowanie ośrodka oddechowego, czego dowiedli inni autorzy [Goodman 1989].

Propofol nie wpływał istotnie na masę zakrzepu tętniczego w porównaniu z grupą kontrolną, pomimo że powodował najsilniejsze obniżenie przepływu krwi podczas propagacji zakrzepu oraz najniższy odsetek drożnych naczyń. Nie oddziaływał ponadto na hemostazę pierwotną (płytki krwi, czas krwawienia), natomiast wykazywał wyraźne działanie antyfibrynolityczne. Interesującą obserwacją był istotny wzrost ekspresji iNOS (bez zmian eNOS) oraz zwiększenie biodostępności NO. Wobec wzrostu aktywności oksydazy NADPH, powodowanej przez propofol, NO mógł być przekształcany w aniony ponadtlenkowe. Zatem wzrost stężenia NO w osoczu stawało się źródłem ROS, o czym świadczy wzrost $H_2O_2$ i MDA po podaniu propofolu. Z drugiej strony, wyższa aktywność SOD powodowana przez propofol katalizuje przemianę silnie toksycznego anionu nadtlenkowego do mniej toksycznego $H_2O_2$. Wydaje się więc, że wzrost aktywności SOD chroni NO przed rozkładem przez anion nadtlenkowy i zwiększa stężenie $H_2O_2$, który uważany jest za składową EDHF.

Chinapryl po podaniu propofolu tracił swój efekt przeciwzakrzepowy i masa zakrzepu stawała się zbliżona do grupy kontrolnej (wciąż pozostawała nieistotnie niższa w stosunku do propofolu samego). Interesujące było wykazanie, że propofol i chinapryl podawane łącznie istotnie wpływały na hemostazę pierwotną poprzez zmniejszenie adhezji płytek krwi do kolagenu, co więcej efekt ten przewyższał działanie chinaprylu samego. Przypuszczalnie silniejsze (przy braku efektu przeciwpłytkowego propofolu) hamowanie adhezji płytek krwi przez oba leki było wynikiem sumowania się działania NO (którego biodostępność znacznie wzrastała pod wpływem propofolu) i EDHF (po chinaprylu) posiadającego właściwości hamowania adhezji i agregacji płytek krwi. Zatem NO uwalniany pod wpływem propofolu potęgował antyadhezyjny efekt chinaprylu.

Wykazałam ponadto, że chinapryl istotnie osłabiał antyfibrynolityczne i prooksydacyjne działanie propofolu.

**Wnioski**

1. Propofol u szczurów z nadciśnieniem naczyniowo-nerkowym pomimo swego działania antyfibrynolitycznego i prooksydacyjnego nie wpływał istotnie na masę zakrzepu tętniczego.
2. Nasilenie stresu oksydacyjnego przez propofol powodujące dysfunkcję śródbłonka naczyniowego mogło prowadzić do upośledzenia potencjału fibrynolitycznego.
3. W zastosowanym modelu badawczym propofol nie oddziaływał na adhezję płytek krwi, chociaż istotnie zwiększał biodostępność NO poprzez wzrost aktywności iNOS.
4. Wzrost aktywności iNOS i biodostępności NO w obecności zwiększonej aktywności enzymów prooksydacyjnych mógł nasilać stres oksydacyjny.
5. Propofol potęgował efekt antyadhezyjny chinaprylu, co mogło być wynikiem dodatkowego oddziaływania NO na płytki krwi.
6. Łączne podawanie chinaprylu i propofolu powodowało największy odsetek epizodów hipotensji oraz najwyższą śmiertelność wśród zwierząt.
7. Chinapryl jedynie częściowo potrafił odwrócić niekorzystne antyfibrynolityczne i prooksydacyjne działanie propofolu.

**P-5. MARZENA WOJEWÓDZKA-ŻELEZNIAKOWICZ**, Anna Gromotowicz-Popławska, Wioleta Kisiel, Emilia Konarzewska, Janusz Szemraj, Jerzy Robert Ładny, Ewa Chabielska. Angiotensin-converting enzyme inhibitors attenuate propofol-induced pro-oxidative and antifibrinolytic effect in human endothelial cells. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System 2017; 18, 1: 10 pp. DOI: 10.1177/1470320316687.*

W opisanej pracy po raz pierwszy dokonana została ocena roli śródbłonka w antyfibrynolitycznym i prooksydacyjnym działaniu propofolu oraz wpływie ACE-I w warunkach *in vitro.* Oceniłam te same parametry fibrynolizy (t-PA, PAI-1, TAFI), biodostępność NO ($NO_2$ / $NO_3$, NOS) i stres oksydacyjny ($H_2O_2$, MDA, oksydaza NADPH, SOD) jak poprzednio w badaniu *in vivo* (P-4). Ponieważ wiele niekorzystnych działań propofolu przypisywanych jest powodowanej przez ten lek hipotensji, zastosowany model badawczy pozwolił wykluczyć wpływ zjawisk hemodynamicznych w naczyniu na ocenę zaangażowania śródbłonka w powyższe procesy.

Wykazałam, że propofol wywierał niekorzystny wpływ na śródbłonek naczyniowy również *in vitro* poprzez nasilanie stresu oksydacyjnego i zmniejszanie uwalniania profibrynolitycznie

działającego t-PA z jednoczesnym wzrostem uwalniania PAI-1 i TAFI. Wśród mechanizmów wyjaśniających antyfibrynolityczne działanie propofolu należy wymienić destrukcję glikokaliksu w komórkach śródbłonka i ich mechaniczne uszkodzenie, bezpośrednie hamowanie uwalniania t-PA, a także inaktywację t-PA poprzez tworzenia kompleksów z PAI-1 [Lin i wsp. 2015; Zhu i wsp. 2013; Tsai i wsp. 2012; Ko i wsp. 2015]. Jak już opisałam w etapie II (P-5), istnieją istotne zależności pomiędzy parametrami stresu oksydacyjnego a fibrynolizą. Wykazano, że stres oksydacyjny wywoływany przez $H_2O_2$ w HUVEC powodował wzrost ekspresji PAI-1, zaś oksydaza NADPH jest głównym enzymem tworzącym reaktywne formy tlenu (ROS) w komórkach śródbłonka i odpowiedzialny jest za zwiększanie poziomu PAI-1.

Propofol także w tej metodzie badawczej zwiększał aktywność iNOS, lecz wzrost metabolitów NO nie był już tak znaczący. Według innych autorów, powstawanie NO w przypadku propofolu jest zależne od dawki leku, a także aktywności eNOS [Petros i wsp. 1993, WAng i wsp. 1995]. W badaniu u szczurów (P-4) wykazałam związek pomiędzy aktywnością iNOS a biodostępnością NO. Zatem brak spodziewanego wzrostu biodostępności NO *in vitro* może być związany z dłuższym czasem inkubacji (30 min. vs 10 min. w innych badaniach) i zużyciem NO do produkcji nadtlenków, a także z istotnym wpływem sił ścierania na uwalnianie NO ze śródbłonka naczyniowego [Petros i wsp. 1993].

W badaniu *in vitro* wykazałam, że oba ACE-I powodowały obniżenie antyfibrynolitycznego potencjału propofolu, a także w przypadku chinaprylu (nie enalaprylu) zmniejszenie ekspresji iNOS. Oba ACE-I znacząco obniżały wartości parametrów stresu oksydacyjnego wywołane przez propofol. Jedynie chinapryl w obecności propofolu istotnie zwiększał ekspresję SOD.

**Wnioski**

1. Propofol zwiększył uwalnianie czynników antyfibrynolitycznych i prooksydacyjnych ze śródbłonka naczyniowego niezależnie od działania hemodynamicznego.
2. Pomimo zwiększania ekspresji iNOS nie zwiększał znacząco biodostępności NO, co może wskazywać na częściową zależność uwalniania NO ze śródbłonka naczyniowego od sił ścinania.
3. Zarówno tkankowy ACE, jak i osoczowy istotnie obniżały działanie antyfibrynolityczne propofolu.
4. Chinaprylat silniej niż enalaprylat zwiększał stężenie wykładników SOD po podaniu propofolu.

## 2.5. Podsumowanie i praktyczne zastosowanie uzyskanych wyników:

Przedstawione opracowanie dotyczy analizy zależności pomiędzy efektem hipotensyjnym ACE-I, a ich wpływem na hemostazę osoczową i płytkową oraz na stres oksydacyjny, z uwzględnieniem różnic w obrębie tej grupy leków. Dokonałam analizy czterech najczęściej stosowanych ACE-I jednocześnie w dwóch modelach badawczych. Wpływ ACE-I na układ hemostazy i stres oksydacyjny oceniony w badaniach doświadczalnych zweryfikowałam w warunkach *in vitro*. Oceniłam bezpieczeństwo stosowania ACE-I u chorych poddawanych znieczuleniu ogólnemu z wykorzystaniem dożylnych anestetyków.

Podsumowując, analiza wpływu ACE-I na proces krzepnięcia i mechanizmy w ten proces zaangażowane wskazują, że chinapryl i perindopril posiadają korzystniejszy profil sercowo-naczyniowy niż enalapryl i kaptopryl, co było szczególnie widoczne w badaniach *in vivo*. Po raz pierwszy wykazałam kompleksowe działanie tych leków na hemostazę oraz na stres oksydacyjny. Wskazałam istnienie korzystnego działania ACE-I, w przypadku dysfunkcji śródbłonka naczyniowego (nadciśnienie tętnicze), niezwiązanego z uwalnianiem NO. Odzwierciedleniem tego było hamowanie tętniczego i żylnego procesu zakrzepowego w zwierzęcym modelu zakrzepicy niezależne od działania hipotensyjnego leków. Silniejsze działanie tkankowych ACE-I *in vitro* uwidoczniło się podczas ich podawania z propofolem. Ocena bezpieczeństwa łącznego stosowania ACE-I oraz propofolu, wykazała częstsze występowanie hipotensji, zatem należy rozważyć inny dożylny anestetyk podczas indukcji znieczulenia ogólnego.

Odnosząc się do sformułowanych we wstępie celów badawczych, główne wnioski z przeprowadzonych badań są następujące:

1. Leki należące do inhibitorów konwertazy angiotensyny nie stanowią jednorodnej grupy. Część z nich wykazuje silniejsze (chinapryl, perindopryl), korzystne działanie śródbłonkowe w porównaniu z innymi (enalapryl, kaptopryl) *in vivo*. Leki te łatwiej penetrują do śródbłonka naczyniowego i innych komórek, wywierając działanie przeciwzakrzepowe i antyoksydacyjne.
2. ACE-I wywierają wielopoziomowe działanie na układ hemostazy: osłabiają adhezję i agregację płytek krwi (hemostaza pierwotna), aktywność wewnątrzpochodnego i zewnątrzpochodnego toru aktywacji krzepnięcia osoczowego, a także poprzez hamowanie uwalniania PAI-1 oraz wzrost uwalniania t-PA (śródbłonek naczyniowy) wykazują działanie profibrynolityczne.

3. Przejawem wyższej skuteczności przeciwzakrzepowej i antyoksydacyjnej tkankowych ACE-I było obniżanie masy zakrzepu w modelu zakrzepicy tętniczej i żylnej u szczurów.
4. Efekt antyoksydacyjny ACE-I nie był uzależniony od czynników jedynie hemodynamicznych, ponieważ w badaniach *in vitro* także osłabiały one stres oksydacyjny poprzez wpływ na śródbłonek naczyniowy.
5. W bezpośrednim kontakcie ACE-I ze śródbłonkiem naczyniowym *in vitro* zarówno tkankowy ACE-I – chinaprylat jak i osoczowy ACE-I – enalaprylat wywierały podobne działanie profibrynolityczne i antyoksydacyjne.
6. W badaniach doświadczalnych *ex vivo* silniejszy wpływ na śródbłonek naczyniowy wywierały tkankowe ACE-I (chinapryl i perindopril), co było wynikiem łatwiejszej penetracji cząsteczki leku do ACE zakotwiczonej w błonie komórkowej.
7. ACE-I jedynie częściowo odwracały antyfibrynolityczne i prooksydacyjne działanie propofolu, dla którego wykazano istotne, niekorzystne działanie śródbłonkowe.
8. Skojarzenie ACE-I z propofolem powodowało incydenty hipotensji zarówno u ludzi, jak i u zwierząt.
9. Nie powinno się odstawiać ACE-I przed zabiegiem operacyjnym ze względu na ich korzystny wpływ na układ hemostazy oraz działanie antyoksydacyjne. Zatem u chorych leczonych ACE-I powinno się do indukcji znieczulenia wybierać anestetyki pozbawione działania śródbłonkowego (naczyniowego), jak np. etomidat.

Niniejsze badanie posiada istotną wartość poznawczą, bowiem po raz pierwszy porównano oraz wykazano różnicę we wpływie na procesy zakrzepowe tkankowych i osoczowych ACE-I w modelu zwierzęcym. W kontekście uzyskanych wyników, zasadnicze z punktu widzenia prewencji chorób układu krążenia jest stosowanie odpowiednich ACE-I w leczeniu schorzeń układu sercowo-naczyniowego, u którego źródła leży zaburzona funkcja śródbłonka oraz zwiększona gotowość prozakrzepowa.

## 2.6. Piśmiennictwo

Bachetti T, Comini L, Pasini E, et al. ACE-inhibition with quinapril modulates the nitric oxide pathway in normotensive rats. *J Mol Cell Cardiol 2001; 33: 395*–403.

Bassenge E. Antiplatelet effects of endothelium-derived relaxing factor and nitric oxide donors. *Eur Heart J 1991; 12: 12–5.*

Bernstein KE, Shen XZ, Gonzalez-Villalobos RA, Billet S, Okwan-Duodu D, et al. Different in vivo functions of the two catalytic domains of angiotensin-converting enzyme (ACE). *Curr Opin Pharmacol. 2011; 11(2): 105–11.*

Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration (BPLTTC). Blood pressure-dependent and independent effects of agents that inhibit the renin-angiotensin system. J. Hypertens. 2007; 25: 951–958

Braunwald E, Domanski MJ, Fowler SE, Geller NL, Gersh BJ, Hsia J, Pfeffer MA, Rice MM, Rosenberg YD, Rouleau JL; PEACE Trial Investigators. Angiotensin converting enzyme inhibition in stable coronary artery disease. *N Engl J Med. 2004; 351(20): 2058–68.*

Brosnihan BK Effect of the Angiotensin-(1–7) peptide on nitric oxide release. *Am J Cardiol 1998; 82: 17S-19S.*

Brown NJ, Vaughan DE Prothrombotic effects of angiotensin. *Adv Intern Med 2000; 45: 419–29.*

Bruneval P, Hinglais N, Alhenc-Gelas F, Tricottet V, Corvol P, et al. Angiotensin I converting enzyme in human intestine and kidney. Ultrastructural immunohistochemical localization. *Histochemistry. 1986; 85(1): 73–80.*

Campbell DJ The renin-angiotensin and the kallikrein-kinin systems. *The International Journal of Biochemistry&Cell Biology 2003; 35: 784–91.*

Casas J.P., Chua W., Loukogeorgakis S. i wsp. Effect of inhibitors of the renin-angiotensin system and other antihypertensive drugs on renal outcomes: systematic review and meta-analysis. *Lancet 2005; 366: 2026–2033.*

Chou TC, Yen MH, Li CY, et al. Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension 1998; 31: 643–48.*

Dagenais G.R., Pogue J., Fox K. et al. Angiotensin converting enzyme inhibitors in stable vascular disease without left ventricular systolic dysfunction or heart failure: a combined analysis of three trials. *Lancet 2006; 368: 581–8.*

Ekholm M, Wallen NH, Johnsson H, et al. Long-term angiotensyn converting enzyme inhibition with ramipril reduces thrombin generation in human hypertension. *Clin Sci (Lond) 2002; 103: 151–55.*

Eyraud D, Mouren S, Teugels K, Bertrand M, Coriat P: Treating anesthesia-induced hypotension by angio- tensin II in patients chronically treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Anesth Analg 1998; 86: 259–263.*

Fogari R., Mugellini A. Zoppi A. Effect of losartan and perindopril on plasma PAI-1 and fibrinogen in hypertensive type 2 diabetic patients. *AM J Hypertens 2002; 15: 316–20.*

Goodman NW, Black AM. Ventilatory effects of propofol infusion. *Eur J Anaesthesiol. 1989;6(5):397–8.*

Harmer D1, Gilbert M, Borman R, Clark KL Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. *FEBS Lett. 2002; 532(1–2):107–10.*

Hubert C, Houot AM, Corvol P, Soubrier F. Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. The complete description of the gene structure of sACE and evidence for alternative promoters for the expression of the mRNAs for somatic and germinal ACE. *J Biol Chem. 1991; 266: 15377–383.*

Jaulmes A, Sansilvestri-Morel P, Rolland-Valognes G, et al. Nox4 mediates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 via p38 MAPK pathway in cultured human endothelial cells. *Thromb Res 2009; 124: 439–46.*

Ko HM, Joo SH, Lee SH, et al. Propofol treatment modulates neurite extension regulated by immunologically chalslenged rat primary astrocytes: A possible role of PAI-1. *Arch Pharm Res 2015; 38: 556–65*.

Krotz F, Riexinger T, Buerkle MA, et al. Membrane potential-dependent inhibition of platelet adhesion to endothelial cells by epoxyeicosatrienoic acids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol 2004; 24: 595–600.*

Licker M, Mortel DR: Inhibitors of the rennin angiotensin system: implications for the anaesthesiologist. *Curr opin Anaesthesiol 1998; 11: 321–326.*

Lin MC, Lin CF, Li CF, et al. Anesthetic propofol overdose causes vascular hyperpermeability by reducing endothelial glycocalyx and ATP production. *Int J Mol Sci 2015; 16: 12092–107.*

Łopaciuk S. Zakrzepy i zatory. PZWL, Warszawa *2002: s123–135.*

Mangano DT: Cardiovascular morbidity association with surgery: perspectives and new findings. *Ann Card Anaesth 1998; 1: 5–40.*

Napoleone E, Di Santo A, Camera M, Tremoli E Angiotensin converting enzyme inhibitors downregulate tissue factor synthesis in monocytes. *Circulation Research 2000; 86: 139–43*.

Oszajca K, Bieniasz M, Brown G, et al. Effect of oxidative stress on the expression of t-PA, u-PA, u-PAR, and PAI-1

in endothelial cells. *Biochem Cell Biol 2008; 86: 477–86.*

Paul M, Mehr AP, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev. 2006; 86:747–803*.

Pawlak R, Chabielska E, Gołatowski J, Azzadin A, Buczko W Nitric oxide and prostacyclin are involved in antithrombotic activity of captopril in venous thrombosis in rats. *Thromb Haemost 1998; 79: 1208–12.*

Pawlak R., Chabielska E., Matys T., Kucharewicz I., Ró łkowski R., Buczko W. Thiol repletion prevents venous Thrombosis in rats by nitric oxide/prostacyclin dependent mechanism: relation to the antithrombotic action of captopril. J Cardiovasc Pharmacol *2000; 36: 503–09.*

Peire MA and Puig-Parellada P. Oxygen-free radicals and nitric oxide are involved in the thrombus growth produced by iontophoresis of ADP. *Pharmacol Res 1998; 38: 353–56.*

Petros AJ, Bogle RG and Pearson JD. Propofol stimulates nitric oxide release from cultured porcine aortic endothelial cells. *Br J Pharmacol 1993; 109: 6–7.*

Pilote L, Abrahamowicz M, Rodrigues E, Eisenberg MJ, Rahme E: Mortality rates in elderly patients who take different angiotensin-converting enzyme inhibitors after acute myocardial infarction: A class effect? *Ann Intern Med 2004; 141: 102–112*

Rahman AM, Murrow JR, Ozkor MA, et al. Endothelium- derived hyperpolarizing factor mediates bradykinin-stimulated tissue plasminogen activator release in humans. *J Vasc Res 2014; 51: 200–208.*

Raasch W, Dendorfer A, Ball B, Dominiak P.The lipophilic properties of angiotensin I-converting enzyme inhibitors do not influence their diffusion through cultured endothelium. *Jpn J Pharmacol. 1999;81(4):346–52*

Reyers I, de Gaetano G, Donati MB. Venostasis-induced thrombosis in rats is not influenced by circulating platelet or leukocyte number. *Agents Actions. 1989; 28(1–2): 137–41.*

Ridker P.M., Gaboury C.L., Conlin P.R., Seely E.W. Stimulation of plasminogen activator inhibitor in vivo by infusion of angiotensin II: evidence of a potential interaction between the renin angiotensin system and fibrinolytic function. *Circulation 1993; 87: 1969–73.*

Riordan JF. Angiotensin-I-converting enzyme and its relatives. *Genome Biology 2003; 4: 1–5.*

Schumacher W.A., Steinbacher T.E., Heran C.L., Megill J.R., Durham S.K. Effects of antithrombotic drugs in a rat model of aspirin-insensitive arterial thrombosis. *Thromb Haemost 1993; 69: 509–14.*

Skidgel RA1, Erdös EG. Angiotensin converting enzyme (ACE) and neprilysin hydrolyze neuropeptides: a brief history, the beginning and follow-ups to early studies. *Peptides 2004; 25(3): 521–25.*

Skogby M., Friberg L.G., Adrian K., Mellgren K. Pharmacological inhibition of plasma coagulation and platelet activation during experimental long-term perfusion. *Scand Cardiovasc J 2003; 37: 222–28.*

Soejima H., Ogawa H., Yasue H., Suefuji H., Kaikita K., Nishiyama K. Effects of imidapril therapy on endogenous fibrynolysis in patients with recent myocardial infarction. *Clin Cardiol 1997; 20: 441–445.*

The EURopean trial On reduction of cardiac events with Perindopril in stable coronary Artery disease Investigators. Efficacy of perindopril in reduction of cardiovascular events among patients with stable coronary artery disease: ran- domised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial (the Europa study). *Lancet 2003; 362: 782–88.*

Tsai YC, HuAng CC, Chu LM, et al. Differential influence of propofol on different cell types in terms of the expression of various oxidative stress-related enzymes in an experimental endotoxemia model. *Acta Anaesthesiol Taiwan 2012; 50: 159–66*.

WAng DL, Wung BS, Peng YC, et al. Mechanical strain increases endothelin-1 gene expression via protein kinase C pathway in human endothelial cells. *J Cell Physiol* 1995; 163: 400–06.

Wojewódzka-Zelezniakowicz M, Chabielska E, Mogielnicki A, Kramkowski K, Karp A, et al. Antithrombotic effect of tissue and plasma type angiotensin converting enzyme inhibitors in experimental thrombosis in rats. *J Physiol Pharmacol. 2006; 57(2): 231–45.*

Yao SK, Ober JC, Gonenne A, et al. Active oxygen species play a role in mediating platelet aggregation and cyclic flow variations in severely stenosed and endothelium-injured coronary arteries. *Circ Res* 1993; 73: 952–67.

Yusuf S., Sleight P., Pogue J., Bosch J., Davies R., Dagenais G. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in hig-risk patietnts. The HOPE (Heart Outcomes Prevention Evaluation) Study

Investigators. *N Engl J Med 2000; 342: 145–53.*

Zakrzeska A, Gromotowicz-Popławska A, Szemraj J, Szoka P, Kisiel W, Purta T, Kasacka I, Chabielska E. Eplerenone reduces arterial thrombosis in diabetic rats. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2015; 16(4): 1085–94.*

Zhu M, Chen J, JiAng H, et al. Propofol protects against high glucose-induced endothelial adhesion molecules expression in human umbilical vein endothelial cells. *Cardiovasc Diabetol 2013; 12: 13–18.*

## III. PODSUMOWANIE DOROBKU NAUKOWEGO

### 1. Dane bibliometryczne

Mój dorobek naukowy obejmuje łącznie 84 publikacje, z których 16 zostało opublikowanych w czasopismach posiadających Impact Factor, oraz 54 streszczenia referatów prezentowanych na zjazdach, w tym 8 zagranicznych, zarówno w formie doniesień ustnych, jak i posterowych. Na 84 publikacje składa się 27 prac oryginalnych (w tym 16 jako pierwszy lub drugi autor), 2 prace kazuistyczne, 25 prac poglądowych, 3 listy do redakcji (w tym 1 praca oryginalna), 27 rozdziałów w podręcznikach, 1 redakcja podręcznika akademickiego. Pełną analizę bibliometryczną przygotowaną przez Bibliotekę Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku przedstawiłam w załączniku nr 5.

**Prace w czasopismach z Impact Factor**

– 12 publikacji oryginalnych po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych, 6 jako pierwszy lub drugi autor

łączny IF 22,568

– 1 praca poglądowa po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych

łączny IF 1,101

– 3 listy do redakcji (w tym 1 praca oryginalna) po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych

łączny IF 6,510

**Prace w czasopismach bez IF**

– 15 publikacji oryginalnych (w tym 1 w suplemencie) po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych, 10 jako pierwszy lub drugi autor
– 24 prace poglądowe, w tym 22 po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych
– 3 listy do redakcji po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych

**Łączny IF publikacji wynosi 30,179 (w tym 6,510 listy do redakcji), sumaryczna punktacja MNiSW – 461 (82 – listy do redakcji), liczba cytowań wg Web of Science: Core Collection – 92, Index Hirscha 5, All Databases - 109, Index Hirscha 6.**

Dane na dzień 03.03.2017 roku

## IV. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

### 1. Podsumowanie pozostałego dorobku naukowego

Przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych wyniki mojej pracy naukowej były opublikowane w 2 publikacjach przeglądowych (MNiSW: 4), a także przedstawione na 4 konferencjach naukowych.

### 2. Dane bibliometryczne

Mój pozostały dorobek naukowy (po wykluczeniu cyklu prac stanowiących osiągnięcie) po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych obejmuje łącznie 76 publikacji, z których 10 zostało opublikowanych w czasopismach posiadających Impact Factor oraz 50 streszczeń referatów prezentowanych na zjazdach, zarówno w formie doniesień ustnych, jak i posterowych.

**Sumaryczny IF publikacji po uzyskaniu stopnia doktora nauk medycznych, niewchodzących w skład osiągnięcia, wynosi 21,473 (w tym 6,510 listy do redakcji), sumaryczna punktacja MNiSW – 374 (82 – listy do redakcji).**

Dane na dzień 03.03.2017 roku

### 3. Tematyka pozostałych prac badawczych

**Dorobek naukowy można podzielić na kilka głównych grup tematycznych**

3.1. Zaburzenia hemostazy w chorobach układu sercowo-naczyniowego.

3.2. Nowoczesne techniki postępowania w przypadku niewydolności wielonarządowej w praktyce szpitalnego oddziału ratunkowego.

3.3. Problematyka diagnostyki i leczenia ostrych zatruć.

3.4. Innowacyjne techniki edukacji w medycynie ratunkowej.

3.5. Organizacyjne aspekty działania systemu Państwowe Ratownictwo Medyczne.

3.6. Badania nad rolą glikozydaz w diagnostyce i patologii chorób metabolicznych i nowotworowych.

Początkiem mojej działalności naukowej była praca przeglądowa z roku 2003 (opublikowana przed uzyskaniem stopnia doktora nauk medycznych), w której po raz pierwszy dokonano analizy piśmiennictwa dotyczącego zależności pomiędzy przyjmowanymi ACE-I, a hipotensją

występującą podczas indukcji znieczulenia, w szczególności z użyciem propofolu. Z obserwacji własnej nie wynikało, by problem ten był dostrzegany i dyskutowany [56]. Dlatego też stał się tematem kolejnych dociekań, w wyniku których powstały prace składające się na osiągnięcie.

### 3.1. Zaburzenia hemostazy w chorobach układu sercowo-naczyniowego.

Moje zainteresowanie problematyką oddziaływania układu renina-angiotensyna-aldosteron na hemostazę skutkowało kontynuacją pracy jako członek grupy badawczej pod kierownictwem Prof. Ewy Chabielskiej. Wykazano, że oprócz Ang II także aldosteron wykazuje zdolność niekorzystnego oddziaływania na układ sercowo-naczyniowy. Wytwarzanie aldosteronu może mieć miejsce poza nadnerczami, również w obrębie ściany naczyń – w śródbłonku i komórkach mięśni gładkich naczyń. Wiele dowodów wskazuje na to, że aldosteron może pośredniczyć lub nawet nasilać niekorzystne działanie Ang II na poziomie lokalnym (tkankowym), powodując proliferację mięśni, dysfunkcję śródbłonka naczyniowego, wzrost uwalniania PAI-1, hamowanie aktywności NOS, nasilenie stresu oksydacyjnego. Przejawem takiego działania było wywoływanie zakrzepicy żylnej u szczurów normotensyjnych poddanych wlewowi aldosteronu [7]. Interesujące było stwierdzenie, że infuzja aldosteronu osłabiała potencjał fibrynolityczny osocza, jednocześnie aktywując układ krzepnięcia. Wykazano, że efekt ten był jedynie częściowo pośredniczony przez receptor mineralokortykoidowy (RM), ponieważ zablokowanie RM selektywnym antagonistą – eplerenonem (EPL) nie było wystarczające do zahamowania tworzenia zakrzepu żylnego i tętniczego u szczurów normotensyjnych obciążonych cukrzycą. Dodatkowo użyto leku blokującego receptor angiotensynowy AT1 – walsartanu w celu oceny zaangażowania receptora angiotensynowego w mechanizm działania aldosteronu. Wykazano, że działanie prozakrzepowe ostrego wlewu aldosteronu u szczurów częściowo pośredniczone było przez receprtor AT1 i wiązało się ze zwiększeniem adhezji płytek krwi, nasilaniem krzepnięcia i osłabieniem fibrynolizy, a także obniżeniem biodostępności NO. Co więcej jednoczesne zablokowanie RM i receptora AT1 nie przynosiło efektu addycyjnego [13]. Naszą uwagę skierowaliśmy na drugi tor przemian Ang II prowadzący poprzez ACE2 do powstania Ang-(1–7), której efekty działania uznaje się za przeciwstawne do Ang II. Dokonaliśmy przeglądu literatury dotyczącej „nowych substancji" blokujących niekorzystne działania układu RAA poprzez promowanie szlaków przemian prowadzących do powstania Ang-(1–7). Do tych molekuł należą: rekombinowany ludzki ACE2, aktywatory ACE2, peptydowe i niepeptydowe analogi angiotensyny-(1–7), inhibitory syntazy

aldosteronu oraz antagoniści receptora mineralokortykoidowego trzeciej i czwartej generacji. W obliczu zachęcajacych wyników badań eksperymentalnych i klinicznych przypuszczamy, że te nowe cząsteczki mogą stanowić istotną składową leczenia chorób układu sercowo-naczyniowego oraz zaburzeń kardiometabolicznych [12]. Stało się to kierunkiem naszych dalszych badań.

Rozpatrując w szerokim ujęciu leki wpływające na układ hemostazy, opisaliśmy 7 przypadków pacjentów z zatorowością płucną otrzymujących rekombinowany tkankowy aktywator plazminogenu lub sterptokinazę podczas resuscytacji krążeniowo-oddechowej. Wykazano, że w tej grupie jedynie dwóch chorych było wypisanych do domu, zaś pięciu zmarło (nieskuteczna resuscytacja lub zgon w ciągu kilku godzin). Co interesujące w analizowanej grupie chorych nie obserwowano istotnych powikłań krwotocznych związanych z równoczesnym stosowaniem leków trombolitycznych i prowadzeniem czynności resuscytacyjnych [54]. Jednak inni autorzy podkreślają znaczący odsetek występowania powikłań krwotocznych po podaniu leków trombolitycznych. Zatem poszukując obiecujących leków trombolitycznych w leczeniu zaburzeń zatorowo-zakrzepowych, przeprowadziliśmy analizę piśmiennictwa dotyczącego rekombinowanej stafylokinazy (r-SAK). Rekombinowane pochodne stafylokinazy mają większość cech skutecznego i bezpiecznego leku trombolitycznego (możliwość podania w bolusie, wysoka swoistość względem fibryny, oporność na inhibitory aktywatorów plazminogenu, niskie ryzyko reokluzji, brak wpływu na ciśnienie tętnicze oraz brak immunogenności). Nadal najpoważniejszym ograniczeniem terapii trombolitycznej z wykorzystaniem r-SAK i jej pegylowanych pochodnych jest ryzyko krwawień [17]. Wyniki opisanych badań były prezentowane w formie doniesień na zjazdach krajowych i międzynarodowych.

### 3.2. Nowoczesne techniki postępowania w przypadku niewydolności wielonarządowej w praktyce szpitalnego oddziału ratunkowego.

Zawarłam tu publikacje poświęcone moim kolejnym zainteresowaniom związanym z pracą kliniczną na szpitalnym oddziale ratunkowym, gdzie problem niewydolności wielonarządowej w przebiegu różnych schorzeń jest istotnym czynnikiem zwiększającym śmiertelność. Najczęstszą przyczyną rozwoju niewydolności wielonarządowej u pacjentów przyjmowanych na oddziały ratunkowe są zakażenia, sepsa, a także niewydolność serca [22, 44–5, 50]. Pozaustrojowe wspomaganie czynności wielu narządów okazało się pomocną metodą terapeutyczną mającą na celu nie tylko wyleczenie, lecz także zapewnienie swoistego pomostu do uzyskania innej formy

leczenia. Najpowszechniejsza na szpitalnych oddziałach ratunkowych jest terapia nerkozastępcza (RRT). Nie jest natomiast dostępna metoda pozaustrojowej eliminacji dwutlenku węgla ($CO_2$) i/lub jednoczesnej oksygenacji pomimo wielu lat istnienia. Metoda ta jest łatwiejsza do zastosowania niż utlenowanie pozaustrojowe (ECMO) w swej klasycznej formie, dostępnej jedynie w ośrodkach dysponujących kardiochirurgią. W pracy opisaliśmy tętniczo-żylne (eliminacja $CO_2$ i oksygenacja) oraz żylno-żylne (tylko eliminacja $CO_2$) metody wspomagania czynności płuc na podstawie dostępnych na rynku urządzeń. Wykazano uprzednio, że w niewydolności wielonarządowej często współistnieje niewydolność oddechowa i niewydolność nerek, zatem retencja płynów powoduje wtórne uszkodzenie płuc i zwiększa śmiertelność chorych. Interesującym rozwiązaniem jest urządzenie łączące w sobie możliwość równoczasowego prowadzenia RRT oraz eliminacji $CO_2$, co wymaga dalszych badań [8].

W leczeniu chorych z niewydolnością wielonarządową istotne znaczenia ma właściwa płynoterapia. Wykazano, że zjawisko przewodnienia chorych, tzw. fluid overload, jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym. W warunkach SOR podczas pierwszych godzin kontaktu z chorym wiele metod oceny gospodarki wodnej jest zawodnych ze względu na krótki czas kontaktu z chorym, a istnieje konieczność natychmiastowej oceny zapotrzebowania płynowego. Użyteczną metodą oceny gospodarki wodnej pacjenta jest pomiar bioimpedancji (BIA). Jest to nieinwazyjna, powtarzalna i szybka metoda, która uzupełniona o badania ultrasonograficzne płuc pozwala na oszacowanie zapotrzebowania płynowego chorych. Badanie BIA polega na zmierzeniu impedancji (oporu elektrycznego złożonego z rezystancji i reaktancji) tkanek, przez które jest przepuszczany prąd elektryczny o niskim natężeniu (1 mA). Zjawisko rezystancji wiąże się z oporem właściwym poszczególnych tkanek, reaktancja wynika głównie z pojemności elektrycznej błon komórkowych, które ze względu na swoją budowę działają jak kondensatory. BIA pierwotnie używana była u chorych leczonych z powodu schyłkowej niewydolności nerek. Wykazaliśmy jej skuteczność u pacjentów dializowanych otrzewnowo [61].

Bioimpedancja okazała się równie skuteczna u chorych w stanie zagrożenia życia. Wykonano 280 pomiarów BIA u 64 pacjentów przez 5 dni. Okazało się, że 70% chorych przy przyjęciu na OIT było przewodnionych i stan ten utrzymywał się przez cały okres pobytu. U chorych z włączoną terapią nerkozastępczą obserwowano narastanie wolemii od drugiego dnia w OIT, co mogło świadczyć o niedostosowaniu szybkości eliminacji płynów w stosunku do podaży. Analiza regresji wykazała, że przewodnienie pacjentów wykazane w BIA silnie korelowało ze

śmiertelnością. Zależność ta była mocniejsza niż w przypadku pomiaru bilansu płynów, a także punktacji uzyskanej wg skal SOFA, APACHE II I SAPS II. W oparciu o to badanie można wnioskować, że pomimo szerokich możliwości oceny gospodarki wodnej u chorych przebywających w OIT nadal istnieje problem kontroli stopnia nawodnienia. Dlatego też do oceny gospodarki wodnej u krytycznie chorych powinno się używać łączonych metod w celu uzyskania wiarygodnych danych [18].

### 3.3. Problematyka diagnostyki i leczenia ostrych zatruć.

Kolejnym kierunkiem badań skoncentrowanych wokół problematyki oddziału ratunkowego był cykl prac dotyczących postępowania w ostrych zatruciach w praktyce SOR. Przy niewielkiej gęstości rozmieszczenia ośrodków toksykologii oddziały ratunkowe stają się pierwszym miejscem, do którego trafiają pacjenci z podejrzeniem ostrego zatrucia.

W czasopiśmie „Postępy Nauk Medycznych" został opublikowany cykl prac dotyczących wielu aspektów zatruć, w którym byłam pierwszym autorem lub współautorem. Opisano rodzaje trucizn, mechanizmy ich działania, podstawowe zasady dekontamimacji przewodu pokarmowego w zatruciach [31, 34, 46]. W jednej z prac opisałam zastosowanie specyficznych skal ciężkości zatruć w połączeniu z oceną chorego w oparciu o skale ogólne. Spośród skal ogólnych zastosowanie znajdują: APACHE II, SOFA, SAPS II, GCS, jednak nie uwzględniają one specyfiki ostrych zatruć i prowadzą często do niedoszacowania zagrożenia. Spośród skal specyficznych stosowane są: skala głębokości śpiączki Matthew, punktowa skala stopnia ciężkości zatrucia tlenkiem węgla (CO) w odniesieniu do wieku chorego, czasu ekspozycji, a także stężenia COHb, specyficzna skala oceny stopnia ciężkości zatrucia inhibitorami cholinoesteraz, obok objawów klinicznych uwzględniająca aktywność acetylocholinoesterazy oraz cholinoesterazy. Wydaje się, że obecnie najbardziej właściwą skalą do oceny ciężkości zatrucia jest skala PSS II, jednak obarczona jest niedoskonałościami, które wymuszają poszukiwania doskonalszych sposobów oceny chorych zatrutych [37].

W pozostałych pracach skoncentrowano się na wybranych ksenobiotykach, poruszono problem „dopalaczy", zatruć grzybami, cyjankami oraz środkami ochrony roślin [28, 30, 33, 38]. Opisałam interesujący przypadek pacjenta zatrutego związkami methemoglobinotwórczymi, u którego rozwinął się zespół niewydolności wielonarządowej. Pacjent został przyjęty z cechami ciężkiej niewydolności oddechowej, szarobrązowym zabarwieniem skóry. Zwracał uwagę

czekoladowobrązowy kolor krwi. Zastosowano w leczeniu, obok konwencjonalnych metod (błękit metylenowy, witamina C, wentylacja mechaniczna, terapia nerkozastępcza), upusty krwi z następczym przetaczaniem preparatów krwiopochodnych. Stan kliniczny pacjenta uległ poprawie w ciągu kolejnej doby hospitalizacji, pomimo wystąpienia zawału serca typu 2 w przebiegu hipoksemii w zatruciu. Pacjenta przytomnego, wydolnego oddechowo i krążeniowo przekazano w czwartej dobie do Kliniki Kardiologii [40]. W kolejnej pracy szerzej omówiony został problem powikłań ze strony układu oddechowego w przebiegu ostrych zatruć. Ostra niewydolność oddechowa może rozwinąć się pierwotnie wskutek działania spożytego ksenobiotyku lub wtórnie do zabiegów medycznych wykonywanych u pacjenta lub powikłań narządowych [32].

Ogromnym problemem oddziałów ratunkowych odczuwalnym na płaszczyźnie ekonomicznej i społecznej są pacjenci zatruci alkoholem. Ze względu na częste zaburzenia świadomości towarzyszące zatruciu wymagają oni wykonywania badań obrazowych, a także terapii nerkozastępczej włączanej w trybie ostrym w przypadku alkoholi wysoce toksycznych. Z mojej analizy wynikało, że najwyższe koszty generowane przez tych chorych nie były związane, jak można przypuszczać, z diagnostyką obrazową, lecz z farmakoterapią i zabiegami, takimi jak podłączanie wlewów kroplowych, wykonywanie iniekcji, prowadzenie ciągłej żylno-żylnej hemodiafiltracji [52].

W pracy przeglądowej, której jestem współautorem, wykazano związek pomiędzy współistnieniem uzależnienia od substancji psychoaktywnych, w tym alkoholu, a zwiększeniem częstości prób suicydalnych. W prewencji samobójstw zaleca się szczególną czujność w stosunku do pacjentów z grup zwiększonego ryzyka, takich jak depresja czy nadużywanie substancji psychoaktywnych [35].

Potwierdzeniem tego jest praca oryginalna, w której dokonano analizy stanu pacjentów przyjętych z powodu prób samobójczych do Szpitalnego Oddziału Ratunkowego Szpitala Wojewódzkiego im. Dr. Ludwika Rydygiera w Suwałkach w latach 2010–2013. Zaobserwowano, że hospitalizacje z powodu prób samobójczych stanowiły niewielki odsetek wszystkich schorzeń (0,12–0,21% rocznie). Problem prób samobójczych dotyczył głównie mężczyzn w wieku między 21 a 40 rokiem życia, mieszkańców miast, z uzależnieniami od substancji psychoaktywnych. Uważa się, że ludzie młodzi, aktywni zawodowo, zamieszkujący miasta są częściej narażeni na stres głównie z pracą i obawami o stabilność finansową. Istotnym czynnikiem ryzyka prób samobójczych są zaburzenia depresyjne. Najczęstszym narzędziem popełnienia samobójstwa

były leki. Pacjenci, którzy popełniali próby samobójcze, rzadko pozostawali w stanie zagrożenia życia i równie rzadko wymagali intensywnej terapii. Średni czas od podjęcia próby samobójczej do zgłoszenia się na SOR wynosił 4.3 godziny. Niewielu pacjentów zgłosiło się w czasie poniżej 1 godziny, wówczas gdy zalecane jest wykonanie płukania żołądka. Nie wykazano zgonów w SOR w grupie chorych po próbach samobójczych. Nasuwa się jednak pytanie o przeżywalność długoterminową tych chorych, ponieważ wielu autorów donosi, że podejmowane próby samobójcze zwiększają śmiertelność wśród chorych z zaburzeniami depresyjnymi. Dlatego też analiza losów pacjentów po próbach samobójczych stała się tematem dalszych badań [24].

### 3.4. Innowacyjne techniki edukacji w medycynie ratunkowej

Moje zainteresowanie nowoczesnymi technikami edukacji w medycynie zbiegło się z utworzeniem w 2012 roku, w Zakładzie Medycyny Ratunkowej UM w Białymstoku pod kierownictwem Prof. Jerzego Roberta Ładnego, pracowni symulacji medycznej [26]. Pozwoliło to na znaczące podniesienie jakości kształcenia w medycynie ratunkowej oraz umożliwiło prowadzenie badań dotyczących zagadnień często niemożliwych do zrealizowania przy pacjencie. Zajęłam się tematyką skuteczności różnych metod udrażniania dróg oddechowych podczas resuscytacji krążeniowo-oddechowej, a także oceną jakości edukacji z zakresu pierwszej pomocy. Zagadnienia te są niezwykle istotne w kontekście badawczym i społecznym, ponieważ jednoznacznie udowodniono, że wzrost przeżywalności pacjentów z zatrzymaniem krążenia związany jest między innymi z podjęciem czynności ratunkowych przez świadków zdarzenia. W jednej z prac dokonano analizy umiejętności prowadzenia resuscytacji krążeniowo-oddechowej wśród uczniów klasy maturalnej w zależności od upływu czasu. Okazało się, że pomimo deklaracji uczniów o odbyciu dotychczas kilkakrotnie już szkoleń z zakresu pierwszej pomocy, licealiści nie posiadali umiejętności prowadzenia prawidłowego uciskania klatki piersiowej podczas resuscytacji krążeniowo-oddechowej. Po 45-minutowym szkoleniu uczniowie opanowali technikę właściwego uciskania klatki piersiowej. Jednak po okresie 3 miesięcy ponownie obserwowano spadek skuteczności prowadzonych działań. Problem stanowiło głównie zachowanie prawidłowej głębokości uciskania klatki piersiowej, zaś tempo pozostawało nadal prawidłowe. Prawidłowa głębokość uciskania klatki piersiowej stanowiła większy problem w grupie kobiet nawet tuż po odbyciu szkolenia. Oznacza to, że ćwiczenia z zakresu resuscytacji krążeniowo-oddechowej powinny być cyklicznie powtarzane, w formie treningu umiejętności pod okiem doświadczonego instruktora [23].

Obok wczesnego podejmowania resuscytacji ogromne znaczenie ma również jej wysoka jakość, na którą składa się minimalizowanie przerw w uciskaniu klatki piersiowej. Szczególnie trudnym momentem jest intubacja usto-tchawicza, podczas której przerwanie kompresji klatki piersiowej może stać się nadmiernie długie. W warunkach symulowanych, w grupie pielęgniarek, zbadano umiejętność intubacji dotchawiczej za pomocą maski nadgłośniowej I-gel stanowiącej prowadnicę dla rurki intubacyjnej. Oceniono skuteczność i czas założenia rurki do tchawicy podczas nieprzerwanego uciskania klatki piersiowej, a także z przerwą w kompresji na wprowadzenie urządzenia. Wykazano zbliżoną skuteczność intubacji w obu scenariuszach z niewielką przewagą sytuacji, w której na czas wprowadzenia rurki przerywano kompresję klatki piersiowej. Natomiast masaż pośredni serca lub jego zaprzestanie nie wpływało na szybkość założenia rurki dotchawiczej. W kolejnej pracy, w której jestem ostatnim autorem, dokonano analizy skuteczności intubacji dotchawiczej w warunkach symulowanych za pomocą innych nowoczesnych metod, takich jak ETView® video-tube oraz wideolaryngoskop Intubrite®. Lekarze, bez wcześniejszego doświadczenia w intubacji z wykorzystaniem wideolaryngoskopu, po 10-minutowym szkoleniu mieli za zadanie założyć rurkę dotchawiczą podczas kompresji klatki piersiowej, z wykorzystaniem przypadkowo wylosowanej jednej z metod. Wykazano wyższą skuteczność i krótszy czas intubacji dotchawiczej podczas kompresji klatki piersiowej z użyciem ETView. Oznacza to, że jakość wizualizacji wejścia do krtani jest istotnym czynnikiem zwiększającym skuteczność intubacji dotchawiczej także w przypadku lekarzy nieposiadających biegłości w stosowaniu tych metod [14].

### 3.5. Organizacyjne aspekty działania systemu Państwowe Ratownictwo Medyczne

System Państwowe Ratownictwo Medyczne w Polsce jest stosunkowo nowym systemem organizacyjnym i powinien być monitorowany pod względem skuteczności działania oraz bezpieczeństwa pacjentów. Wejście w życie Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 20 kwietnia 2016 roku, dotyczącego rozszerzenia kompetencji zawodowych ratowników medycznych, stało się dodatkowym czynnikiem wskazującym na konieczność oceny [21]. W tym celu powstały prace wielokierunkowo analizujące funkcjonowanie opieki przedszpitalnej oraz wczesnoszpitalnej u chorych w stanie zagrożenia życia [53]. Zajęłam się zagadnieniem wczesnego postępowania u chorych z ostrym zespołem wieńcowym w aspekcie czasu, podejmowanych interwencji medycznych, ze szczególnym uwzględnieniem bezpieczeństwa stosowania terapii przeciwpłytkowej [20, 41, 55]. Następstwem przeprowadzonych analiz było stworzenie algorytmu

postępowania przedszpitalnego w ostrych zespołach wieńcowych w województwie podlaskim dedykowanego zespołom ratownictwa medycznego.

Wyznacznikiem skuteczności systemu ratownictwa medycznego jest obniżenie wskaźników śmiertelności wczesnej. Udało się to osiągnąć w wielu krajach, w których system ratownictwa medycznego działa dłużej niż w Polsce. W naszym kraju problematyka zgonów chorych na SOR jest jeszcze mało poznana, dlatego podjęłam wraz z zespołem ten temat badawczy. Wykazano, że wczesną śmiertelnością na SOR częściej obciążone były osoby w wieku podeszłym, mężczyźni, zaś przyczyną najczęściej była niewydolność krążeniowo-oddechowa. Wskazuje to na konieczność modyfikacji procedur profilaktycznych i diagnostyczno-terapeutycznych w tej grupie chorych. Malejący w latach współczynnik śmiertelności wczesnej może wskazywać na coraz lepsze działanie systemu ratownictwa medycznego w województwie podlaskim [29].

W poszukiwaniu czynników rokowniczych wczesnej śmiertelności w mnogich obrażeniach ciała porównałam anatomiczne i fizjologiczne skale urazowe. Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, że istnieje zasadność stosowania skal w ocenie ciężkości obrażeń ciała. Skala TRISS (Trauma Injury Severity Score) w najwierniejszy sposób odzwierciedlała szanse na przeżycie pacjentów w oparciu o analizę anatomiczną i fizjologiczną. Jej użyteczność jest jednak ograniczona do warunków szpitalnych ze względu na skomplikowane obliczenia, właściwie niemożliwe do przeprowadzenia bez odpowiedniego kalkulatora skal. Wciąż brakuje skali, która identyfikowałaby pacjentów z ciężkimi obrażeniami, którzy początkowo nie prezentują nasilonych zaburzeń fizjologicznych, u których zwłoka wiąże się z wysokim ryzykiem wystąpienia zgonu [19].

Zajęłam się również problematyką śmiertelności przedszpitalnej w kontekście organizacyjno-prawnym. W obliczu braku regulacji dotyczących stwierdzania zgonu poddano analizie zjawisko dysponowania ZRM typu S na miejsce działań zespołów P w celu stwierdzenia zgonu i oceniono wpływ powyższych zdarzeń na zdolność zasobów systemu PRM do realizacji ustawowych zadań. Wykazano, że wyjazdy do stwierdzenia zgonu stanowią istotny element działania zespołów ratownictwa medycznego, angażując je do działań niewynikających z definicji nagłego zagrożenia zdrowotnego. Wydaje się, iż w związku z niedostosowanym stanem prawnym w zakresie stwierdzania zgonów i wystawiania kart zgonów, w szczególności w obszarze wskazywania osób bezpośrednio odpowiedzialnych za dokonywanie tej czynności, dobrym rozwiązaniem może być powołanie instytucji koronera, rozumianej jako grupy specjalnie przeszkolonych lekarzy medycyny sądowej lub innej specjalności uprawnionych do wystawiania kart zgonów [25].

### 3.6. Badania nad rolą glikozydaz w diagnostyce i patologii chorób metabolicznych i nowotworowych.

W związku z uruchomieniem przy Zakładzie Medycyny Ratunkowej i Katastrof, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku laboratorium analitycznego uczestniczyłam w pracach zespołu badawczego zajmującego się oceną roli glikozydaz w diagnostyce i patologii chorób metabolicznych i nowotworowych. W jedym z badań oceniono aktywność lizosomalnych egzoglizydaz alfa-fukozydazy (FUC) oraz beta-galaktozydazy (GAL) w surowicy pacjentów z chorobą z Lyme. Znaczny wzrost aktywności GAL lecz nie FUC, w surowicy pacjentów z chorobą z Lyme wskazywał na udział GAL w zwiększonej przebudowie glikokoniugatów tkankowych związanych z zapaleniem spowodowanym zakażeniem Borrelia burgdorferi [9,27]. W poszukiwaniu wczesnych metod diagnostycznch raka jelita grubego zbadano korelecje pomiędzy aktywnością lizosomalnych egzoglizydaz: N-acetylo-P-D-heksozaminidazy (HEX), jej izoenzymów A (HEX A) i B (HEX B), β-D-galaktozydazy (GAL), α-fukozydazy (FUC) i α-mannozydazy oraz katepsyny D (CD) w tkance nowotworowej, w surowicy i moczu chorych na gruczolakoraka jelita grubego. Zaobserwowano wzrost aktywności egzoglikozydaz i CD, prawdopodobnie związany z degradacją i przebudową glikokoniugatów tkankowych w przebiegu gruczolakoraka jelita grubego. Zatem egzoglikozydazy mogą odgrywać rolę w inicjacji proteolizy i progresji nowotworu [11].

W pracy poglądowej opisano wpływ etanolu na metabolizm glikokoniugatów (glikoproteiny, glikolipidy i proteoglikany). Etanol hamuje biosyntezę, transport, a także katabolizm wielu różnych glikokoniugatów. Dokładny mechanizm działania etanolu nie jest jeszcze poznany. Wśród chorób związanych z zaburzeniami metabolizmu glikokoniugatów wywoływanych przez ekspozycję na etanol wymienia się zespół alkoholowy płodu (FAS) i alkoholową chorobę wątroby (ALD). Poznanie mechanizmów błędów metabolicznych wywołanych przez alkohol ma kluczowe znaczenie dla zrozumienia wielofunkcyjnej patogenezy schorzeń związanych z nadużywaniem alkoholu [16]. W innym badaniu stwierdzono zwiększoną aktywność peroksydazy w ślinie chorych palących papierosy i nadużywających alkoholu [10]

W załączniku numer 3 przedstawiłam wykaz opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz szczegółowe informacje o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki.

Monika Hołowińska-Żelezniakowicz

## V. KOPIA DOKUMENTU POTWIERDZAJĄCEGO POSIADANIE STOPNIA DOKTORA